

Biomimetische Strategien zur Funktionalisierung von Metalloberflächen

Dissertation

Zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

Elisa Franzmann

vorgelegt dem Fachbereich Biologie und Chemie der



Gießen

2013

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen sind und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

1. Gutachter: Prof. Dr. Wolfgang Maison

2. Gutachter: Prof. Dr. Richard Göttlich

Tag der mündlichen Prüfung:

Viele kleine Leute, an vielen kleinen Orten,
die viele kleine Schritte tun,
können das Gesicht der Welt verändern.

Für meine Familie

Danksagung

Am Ende einer Doktorarbeit kommt der Zeitpunkt, an dem man über all die Personen und Geschehnisse nachdenkt, die zum Gelingen dieser Arbeit und damit zu diesem bedeutenden Schritt in meinem Leben beigetragen haben.

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum zwischen März 2009 und Juni 2012 am Institut für Organische Chemie der Justus-Liebig-Universität Gießen im Arbeitskreis von Prof. Dr. Wolfgang Maison durchgeführt.

Zunächst möchte ich sehr herzlich Prof. Dr. Wolfgang Maison für die Möglichkeit danken dieses sehr interessante und tolle Thema bearbeiten zu dürfen. Besonders möchte ich dabei die sehr engagierte, hervorragende fachkundige und liebenswerte Betreuung und die vielen hilfreichen, lehrreichen und vielseitigen wissenschaftlichen Gespräche erwähnen.

Prof. Dr. Richard Göttlich danke ich für die freundliche Übernahme der Begutachtung meiner Arbeit.

Sehr herzlich möchte ich mich bei meiner Arbeitsgruppe und allen Ehemaligen für eine unvergessliche und wunderschöne Zeit während und nach der Arbeit bedanken. Ich danke Euch für eine sehr schöne, hilfreiche und abwechslungsreiche Arbeitszeit und viele schöne und lustige Erinnerungen nach Feierabend oder in der Freizeit. Euch allen wünsche ich von Herzen viel Erfolg bei der ausstehenden Doktorarbeit und der Zukunft. Ich werde Euch sehr vermissen!

Ich danke allen „guten Geistern“ des Instituts für ihre Unterstützung durch zahlreiche Messungen, Chemikalien, Reparaturen, Ratschläge und stetige Hilfsbereitschaft und Freundlichkeit.

Darüber hinaus möchte ich mich bei allen Arbeitskreisen des FB08 für den freundschaftlichen Austausch und die Hilfsbereitschaft bedanken, insbesondere bei unseren Flurnachbarn der AG Göttlich.

Mein Dank gilt allen Praktikanten, die mich im Rahmen ihrer Praktika unterstützt haben, besonders zu nennen meine liebe Bachelorin Mathilde Fey und meine Praktikantin Julia Migenda.

Ich danke unseren Kooperationspartnern AG Janek (Alexander Rein und Dr. Markus Rohnke), AG Smarsly (Michael Schröder und Christoph Weidmann), AG Spengler (Stefanie Gerbig und Christian Schäfer), AG Rudloff (Prof. Dr. Silvia Rudloff, Christian Zimmermann und Sinaida Streichert), AG Schnettler (Dr. Katrin Lips, Dr. Katrin Trinkaus und Olga Dakischew), AG Wöstmann (Gero Winkler und Michael Kohl) AG Gross Dipartimento Di Scienze Chimiche – Univerisita` Degli Studi Di Padova (Prof. Dr. Silvia Gross) und Dr. Valerio Di Marco ebenfalls in Padua für die guten Zusammenarbeit und hilfreiche Unterstützung.

Ich danke meinen Freunden für Ihre Hilfe, Geduld, ihre aufbauenden Worte, ihren Beitrag, und Daumendrücken während der Dr. Arbeit.

Meiner Familie und meinem Freund möchte ich zu guter Letzt von ganzen Herzen für ihre Unterstützung und lieben, aufmunternden Worte danken. Danke, dass ihr immer für mich da seid.

Ich liebe Euch so sehr.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
1 Einleitung	7
1.1 Biofouling	7
1.2 Beschichtung von Oberflächen	10
1.2.1 Selbstorganisierte Monoschichten (SAMs)	10
1.2.2 Eine mögliche Anwendungsart von beschichteten Oberflächen am Beispiel von Polymerbeschichtungen	11
1.3 Die Verwendung von TiO ₂ im menschlichen Körper	12
1.4 Eigenschaften und Anwendungen von TiO ₂ und Nanopartikeln aus TiO ₂	13
1.4.1 Nanopartikel	15
1.5 Komplikationen bei der Verwendung von TiO ₂ in der Medizin	15
2 Kenntnisstand und Zielsetzung	17
2.1 Natürliche Klebstoffe	17
2.2 Muschel Adhäsionsproteine	18
2.3 Siderophore	19
2.4 Chelatoren	21
2.5 Die Entwicklung von Catecholderivaten für Oberflächenbeschichtungen und deren besondere Vorteile	21
2.6 Adamantan & multivalente Oberflächenbinder	25
2.7 Zielsetzung	27
3 Resultate und Diskussion	30
3.1 Übersicht	30
3.2 Adamantangrundgerüste	31
3.3 Kernfragmente	33
3.4 Funktionalisierung des Brückenkopfatoms am Adamantangrundgerüst	34
3.5 Funktionalisierung der Seitenketten	37
3.5.1 Seitenketten mit Aminfunktion	37
3.5.2 Seitenketten mit Alkoholfunktion	42
3.5.3 Seitenketten mit Aktivesterfunktion	42
3.6 Monovalente Adamantangerüste	42

3.7	Catecholderivate als Oberflächenbinder.....	43
3.7.1	Trivalente Catecholderivate auf Adamantanbasis	44
3.7.2	Dopaminderivate	47
3.8	Catecholderivate mit Effektormolekülen.....	49
3.8.1	Poly(ethylenglycol) (PEG)	49
3.8.2	Funktionalisierung von Poly(ethylenglycol) (PEG)	50
3.8.3	Verknüpfung der Catecholderivate mit Poly(ethylenglycol) (PEG)	51
3.8.4	Verknüpfung der Catecholderivate mit dem Farbstoff Eosin Y	52
3.9	Catecholderivate als Metallchelatoren.....	54
3.9.1	Trivalente Catecholderivate auf Adamantanbasis	54
3.10	Bindungs-Assays an Oberflächen.....	59
3.11	Titan-Oberflächen.....	60
3.12	Oberflächencharakterisierung der hergestellten TiO ₂ -Schichten	61
3.12.1	Profilometrie	61
3.12.2	Rasterelektronenmikroskop (REM).....	62
3.13	Dip-Coating Verfahren	62
3.14	Charakterisierung der Oberflächenbeschichtung monovalenter und trivalenter Catecholderivate	63
3.14.1	Kontaktwinkelmessung	63
3.14.2	SIMS-ToF	66
3.14.3	Ellipsometrie.....	68
3.14.4	FTIR-Spektroskopie und visuelle Überprüfung	70
3.15	Untersuchung PEG-beschichteter Oberflächen	72
3.15.1	Dip-Coating Verfahren	72
3.15.2	Kontaktwinkelmessungen.....	73
3.15.3	Ellipsometrie.....	75
3.16	Antifouling-Eigenschaften der beschichteten TiO ₂ -Oberflächen	77
3.17	Stammzellen	80
3.18	Stabilitätstest.....	85
3.19	Bindungseigenschaften der Catecholderivate auf ZnO-Nanopartikeln	90
3.20	Oberflächencharakterisierung.....	90
3.20.1	TGA / DSC-Messungen.....	90
3.20.2	XPS Messungen.....	95

4	Zusammenfassung.....	98
5	Summary	106
6	Experimenteller Teil.....	108
6.1	Lösungsmittel, Chemikalien und Verbrauchsmaterialien.....	108
6.2	Analytik	108
6.3	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV).....	112
	Immobilisierung der Catecholderivate auf TiO ₂ -Oberflächen (AAV 1)	112
	Immobilisierung der Catecholderivate auf TiO ₂ - und ZnO-Nanopartikel (AAV 2)	113
	Durchführung der Stabilitätstest (AAV 3).....	113
	Stammzellen Kultivierung (AAV 4 a).....	113
	Durchführung des Biofouling-Assays (AAV 4 b).....	114
6.4	Darstellung der Adamantangerüste	115
6.5	Kopffragmente.....	116
6.6	Seitenketten	121
6.7	Monovalente Adamantangerüste	133
6.8	Dopaminderivat als Oberflächenbinder.....	134
6.9	Dopaminderivat auf Adamantanbasis als Oberflächenbinder	136
6.10	Trivalentes Catechol auf Adamantanbasis als Oberflächenbinder	137
6.11	Poly(ethylenglycol) PEG	143
6.12	Klick-Reaktionen.....	147
6.13	Verknüpfung der PEG-Derivate mittels Klick-Reaktion und NHS-Ester Kupplung	148
6.13.1	Klick-Reaktion.....	148
6.13.2	NHS-Ester Kupplung.....	150
6.13.3	Farbstoffe.....	151
6.14	Trivalente Catecholderivate auf Adamantanbasis als Metallchelatoren.....	153
	MALDI-Spektren.....	158
	XPS-Spektrum	160
7	Gefahrstoffe	161
8	Literaturverzeichnis	165

Abkürzungsverzeichnis

abs.	absolutiert
äq.	Äquivalent
atm	Atmosphäre
Boc-	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl-
cat.	katalytisch
Cbz-	Benzyloxycarbonyl
d	Tage
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	<i>N,N</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DCU	<i>N,N</i> -Dicyclohexylharnstoff
dest.	destilliert
DIBAL-H	Diisobutylaluminiumhydrid
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DOPA	3,4-Dihydroxyphenylalanin
DPPA	Diphenylphosphorylazid
DSC	Dynamische Differenzkalorimetrie
EDTA:	Ethylendiamintetraessigsäure

ESI	Elektrospray-Ionisation
FTIR	Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie
h	Stunde(n)
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
HOBT	1-Hydroxybenzotriazol
IEP	Isolektischer Punkt
<i>J</i>	Kopplungskonstante
konz.	konzentriert
Lsg.	Lösung
LM	Lösungsmittel
MAP	Muscheladhäsionsprotein
max.	maximal
min	Minute
Ms	Methansulfonyl-(Mesyl-)
MOPS	3-(<i>N</i> -Morpholino)-propansulfonsäure
MRSA	Methicillin resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
MW	Mikrowelle
n	Brechungsindex
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
quant.	quantitativ
PBS	Phosphate buffered saline
PC	Phosphatidylcholin

PE	Petrolether
PEG	(Polyethylen)glycol
PDMS	Poly(dimethylsiloxan)
PPI	Poly(propylenimin)
REM	Rasterelektronenmikroskop
RT	Raumtemperatur
SAMs	Selbstorganisierte Monoschichten
sek	Sekunde(n)
SIMS-ToF	Sekundärionenmassenspektrometrie-Time of Flight
Smp.	Schmelzpunkt
Th	Schichtdicke
TFA	Trifluoressigsäure
TGA	Thermogravimetrische Analyse
THF	Tetrahydrofuran
Tos	Tosyl-
Δ	erhitzen
UV	Ultraviolett
XPS	X-ray photoelectron spectroscopy
Zn(acac) ₂	Zinkacetylaceton

1 Einleitung

1.1 Biofouling

Die Verwendung von künstlichen Oberflächen in medizinischen, biochemischen und biotechnologischen Bereichen, vor allem bei medizinischen Werkstoffen, ist stark beeinflusst durch das sogenannte Biofouling.

Im täglichen Leben sind wir von einer Vielzahl schädlicher und unschädlicher Bakterien, Viren und Pilzen aus dem Boden, der Luft oder dem Wasser umgeben. Bakterien und Pilze sind als Einzeller in der Lage, sich selbständig zu vermehren, Viren besitzen demgegenüber keinen eigenen Stoffwechsel und benötigen die Zelle eines fremden Organismus, um sich zu vermehren.

Trotzdem gehen manche Bakterien eine symbiotische und lebensnotwendige Verbindung mit dem Menschen ein, betrachtet man zum Beispiel die Darm- oder Mundflora. Selbst für das menschliche Immunsystem sind Bakterien ausgesprochen wichtig, damit es seine Funktion regelmäßig erneuern kann.

Neben diesen harmlosen Bakterien gibt es allerdings eine große Anzahl von Bakterien, die eine negative Auswirkung auf unsere Gesundheit haben. So können zum Beispiel Wundentzündungen, Blutvergiftung, Blasen- oder Lungenentzündung auf einen bakteriellen Befall zurückgeführt werden.¹

In Krankenhäusern und öffentlichen Einrichtungen besteht seit einigen Jahren ein hohes Risiko an Methicillin resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) Bakterien zu erkranken, welche riskante Infektionserreger des 21. Jahrhunderts sind.

Insbesondere beim Einsatz von medizinischen Geräten wie Implantaten, Kathetern und Stents stellen Infektionen ein großes Risiko dar, da ein solcher bakterieller Befall eine Vielzahl an Komplikationen (zum Beispiel Thrombosen) mit negativen Konsequenzen für den Patienten nach sich ziehen kann.² Ein Faktor, dem bei diesen Infektionen herausragende Bedeutung zukommt, ist die bakterielle Besiedlung von Oberflächen.

Das theoretische Verständnis dieses Phänomens basiert auf den Erkenntnissen von COSTERTON *et al.*, die schon 1978 auf die Besonderheit des bakteriellen Biofilms hinwiesen und den Begriff „race for the surface“ prägten.²

Auch für Oberflächen der Nahrungsmittelindustrie, Wasserreinigungsanlagen, Marine- und Industriearüstungen bedeutet der bakterielle Befall, aber auch die mögliche Anlagerung von Proteinen oder Mikroorganismen ebenfalls ein hohes Risiko an Kontaminationen. Daraus resultieren aufwändigen Reinigungsabläufen, verminderte Produktion und Effizienz sowie hohe Kosten.^{3,4}

Der biomedizinischen Wissenschaft war es daher in den vergangenen Jahren ein großes Anliegen, die Erforschung des bakteriellen Befalls von Oberflächen voranzutreiben.⁵

Allgemein wird dieser mikrobielle Befall in Fachkreisen als „Biofouling“ bezeichnet, das Ergebnis dieses Befalls bzw. der Lebensraum der Bakterien als Biofilm.⁶ Die Geschwindigkeit der Oberflächenbesiedlung und die Ausbildung eines Biofilms sind für das Überleben der Bakterien und die Entstehung einer Infektion entscheidend und äußerst kompliziert.

Biofilme bilden sich überwiegend in wässrigen Systemen, entweder auf der Wasseroberfläche oder auf einer Grenzfläche zu einer festen Phase. Bakterien findet man dabei selten isoliert: Haben sie sich erst einmal aus ihrer planktonischen, d.h. im flüssigen Medium verteilten Form vereinzelt auf einer Oberfläche angelagert (1), koagulieren (2) sie dort zu durchorganisierten und komplexen Lebensgemeinschaften (3) und vermehren sich exponentiell (4), um sich auf der jeweiligen Oberfläche vollständig auszubreiten (5) (Abbildung 1).

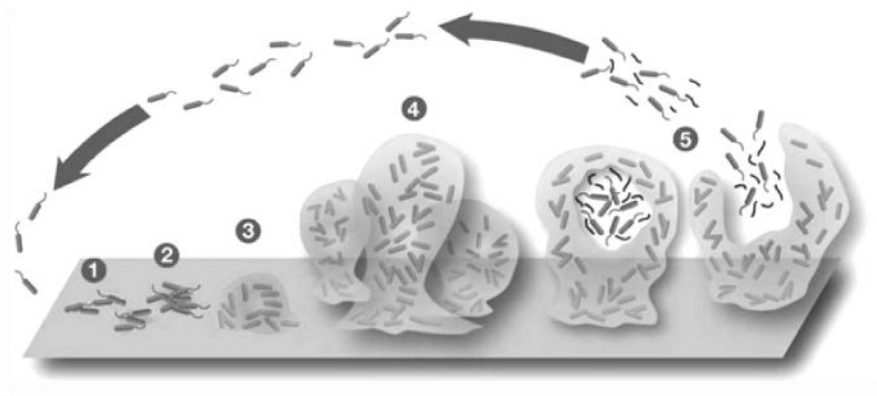


Abbildung 1: Der Wachstumszyklus der Biofilmbildung⁶

Die Bindung der Bakterien auf der Oberfläche erfolgt nach dem Initiierungsschritt, d.h. der Anlagerung von Biomolekülen wie zum Beispiel Proteinen. Auf diesem initiierenden Film lagern sich im zweiten Schritt Bakterien an, die in der Folge den sogenannten Biofilm ausbilden.⁷

Eine Vielzahl von Hypothesen wurde aufgestellt, um die Resistenz von Biofilmen gegen antibiotische Angriffe zu erklären.

Eine häufig aufgezeigte Tatsache ist die nicht vollständige Durchdringung des Biofilms mit Antibiotika. Dies konnte bei Versuchen bestätigt werden, bei welchen bakterielle Biofilme unterschiedlichen Antibiotika-Konzentrationen ausgesetzt wurden. Das Phänomen der limitierten Penetration einiger Antibiotika in Biofilmen lässt sich durch die extrazelluläre, polymere Matrix erklären. Sie ist für jeden Bakterienstamm spezifisch und besitzt eine außergewöhnliche komplexe Zusammensetzung aus Polysacchariden, kleineren Peptiden und DNA.¹

Ein weiterer Grund für die hohe Resistenz verschiedener Bakterien ist der mannigfaltige Mikrolebensraum in Teilen des Biofilms, der sich in unterschiedlichste Schichten von Verteidigung gegen antibiotische Stoffe aufteilt. Biofilme sind in einem hohen Grad strukturiert und besitzen in den einzelnen Schichten Wasserkanäle, um Nährstoffe und Abfallprodukte abzutransportieren oder ins Innere des Biofilms einzuschleusen. Zusätzlich wird Sauerstoff häufig an der Oberfläche verbraucht. Dieser Vorgang führt zum Entstehen anaerober Taschen, die die Wirksamkeit einiger Antibiotika vermindern können.¹

Des Weiteren ist bekannt, dass sich Wachstumsraten innerhalb des Biofilms von Ort zu Ort ändern, sodass nicht proliferierende Regionen zum Beispiel durch β -Lactamantibiotika, die das Wachstum inhibieren, nicht beeinflusst werden können.

Diese unterschiedlichen Wachstumsraten werden durch die Kommunikation der Bakterien mit Hilfe von Signalmolekülen untereinander (Quorum Sensing) möglich. Bakterien nutzen dies, um sich in erster Linie gegenseitig wahrzunehmen, um somit ihre Populationsdichte zu erhöhen und ihre Überlebensstrategie zu verändern.^{8,9}

Mit diesen Kenntnissen des bakteriellen Befalls und der Anlagerung von Proteinen oder Mikroorganismen ist die Voraussetzung eines Lösungsansatzes gegeben. Dieser besteht in der Herstellung von beschichteten Materialien, die zum einen die Adsorption und Ausbildung eines Biofilms verhindern, zum anderen biokompatible Eigenschaften in Bezug auf ihre medizinische Anwendung aufweisen sollen.

1.2 Beschichtung von Oberflächen

1.2.1 Selbstorganisierte Monoschichten (SAMs)

Das Konzept der selbstorganisierten Monoschichten SAMs (self-assembled monolayers) hat seit seiner Einführung 1980 große Aufmerksamkeit auf sich gezogen und damit die Bedeutung der Oberflächenbeschichtung revolutioniert.¹⁰ Heutzutage ist es ein wichtiger Bestandteil der Nanotechnologie und hat seitdem die Herstellung von neuartigen, funktionalen und strukturierten Materialien inspiriert.¹¹

Monoschichten können durch Adsorption von molekularen Bestandteilen aus Lösungen oder aus der Gasphase auf eine feste oder flüssige Oberfläche (Abbildung 2) abgeschieden werden und bieten ein bequemes, flexibles und einfaches System, um die Grenzflächeneigenschaften von Halbleitern, Metalloxiden und Metallen zu verändern.^{12,13}

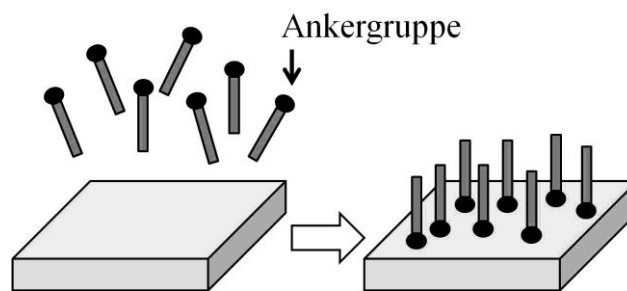


Abbildung 2: Ausbildung von selbstorganisierte Monoschichten (SAMs) auf einer Oberfläche

Eine Vielzahl von zur verändernden Oberfläche passenden „Ankergruppen“ (zum Beispiel Thiole, Silane und Phosph(on)ate) konnten dabei in den letzten Jahren erforscht werden.^{14,15,16}

Dabei zeigen diese jedoch oft eine limitierte Anwendbarkeit bezüglich der Oberflächenmaterialien und / oder eine geringe Stabilität.

Thiole zum Beispiel bilden Monoschichten auf Edelmetallen (wie Gold, Platin, usw.) aus, Alkylsilane können dagegen nur auf SiO_2 und Silizium-Oberflächen aufgebracht werden und Phosph(on)ate eignen sich für eine Reihe von Metalloxiden.^{17,18,19,20,21}

1.2.2 Eine mögliche Anwendungsart von beschichteten Oberflächen am Beispiel von Polymerbeschichtungen

Die Immobilisierung von Polymeren auf Oberflächen, insbesondere auf Metallen, ist ein häufig genutzter Ansatz, um die unspezifische Adsorption von Zellen, Proteinen oder Bakterien gezielt zu minimieren bzw. zu verhindern.

Frühere Untersuchungen auf dem Gebiet der Zell-Material Interaktion haben gezeigt, dass es zwei Arten von nicht toxischen Beschichtungen gibt, die für diese Anwendung genutzt werden können.

Zum einen sind es hydrophobe Oberflächen, wie beispielsweise Poly(dimethylsiloxan) (PDMS), die gute „Fouling Release“ Eigenschaften besitzen, wohingegen hydrophile Oberflächen, beschichtet mit einem Polymer, wie Poly(ethylenglycol) (PEG) (hydrophil, flexibel, zur Wasserstoffbrückenbindungen fähig), mit einer sehr geringen Grenzflächenenergie die Adsorption von Proteinen und Zellen verhindern.

Eine Vielzahl von Forschungsergebnissen konnte dabei belegen, dass vor allem auf Goldoberflächen, immobilisiert Poly- und Oligo(ethylenglycol)-terminierte Alkanthiole herausragende, proteinresistente Eigenschaften aufweisen.^{22,23}

Es ist jedoch bekannt, dass PEG in Gegenwart von Luftsauerstoff zu Aldehyden und Ethern oxidiert werden kann, was eine Verminderung der Antifouling-Eigenschaften zur Folge hat. Die Einführung von Oligo(ethylenglycol)-Gruppen bzw. der Austausch von Ethylenglycol gegen Propylensulfoxid soll diese Oxidation verhindern.²⁴

Doch weitere Forschungsschritte zeigen neue und verbesserte Oberflächenbeschichtungen, wie zum Beispiel Polyampholyte auf. Diese Ergebnisse basieren auf einem simplen Prinzip, demzufolge Polymere sowohl negative als auch positive geladene Gruppen tragen.

Ebenfalls ist die Anwesenheit von polaren funktionellen Gruppen und Wasserstoffbrücken-Akzeptoren und die Abwesenheit von Wasserstoffbrücken-Donoren hervorragende Voraussetzung für solche Arten von Beschichtungen. Ersetzt man zum Beispiel bei Peptidbindungen die Wasserstoffatome durch Methylgruppen, wird die Anzahl an Wasserstoffbrücken-Donoren vermindert. Dies wiederum verbessert die Inertheit der Oberfläche. Zusätzlich erhöht sich die Protein-Resistenz infolge der Reduzierung der Wasserstoffbrücken-Donoren.²⁵

Ein weiteres Ziel ist die Einarbeitung von Proteasen in die Oberfläche, die den Proteinabbau fördern und eine biokatalytische Aktivität besitzen. Enzyme können so für das Abtöten von Bakterien oder für die Generierung von antimikrobiellen Wirkstoffen genutzt werden.²⁵

Auch die Dotierung mit Silberpartikeln ist sehr beliebt, da Silber sehr gute antibakterielle Aktivitäten aufweist.²⁶

Doch nicht nur keimtötende Beschichtungen kommen in Frage:

Auf Implantaten können so geeignete Beschichtungen oftmals eine signifikante Zunahme der Osseointegration zwischen dem Knochen und dem Implantat bewirken. Dabei handelt es sich um Beschichtungen mit Hydroxylapatit, Calciumphosphat oder mit dem Wirkstoff Pamidronat, die ebenfalls eine Stärkung des operativ beschädigten Knochens fördern.^{27,28,29}

Generell kann festgehalten werden, dass die Entwicklung von innovativen und bedarfsgerechten Materialien für die industrielle oder private Nutzung nur durch eine erfolgreiche und gezielte Beschichtung von Oberflächen für zukünftige Anwendungen möglich ist.

1.3 Die Verwendung von TiO₂ im menschlichen Körper

Wir leben heute in einer alternden Gesellschaft, da immer mehr Menschen ein höheres Lebensalter erreichen. Die durchschnittliche Lebenserwartung betrug vor rund 100 Jahren etwa 45 Jahre. Heute liegt sie bei 77 Jahren für neugeborene Jungen und 82 Jahren für neugeborene Mädchen und steigt jährlich um 3 Monate, täglich um 5 Stunden an.³⁰⁻³¹

Diese Entwicklung bedeutet einen Zuwachs an altersbedingten Leiden wie Herz-Kreislauferkrankungen, *Diabetes mellitus*, Einschränkung des Bewegungsapparates und Verlust der geistigen Kräfte.

Auf Grund dieser Erkrankungen kommt es unter anderem zu einer stetig wachsenden Zahl an behandlungsbedürftigen Arthrosen (Abnutzung bedingte Gelenkerkrankungen), Arthritiden (entzündliche Gelenkerkrankungen) und Herzrhythmusstörungen (zu langsame / zu schnelle Herzfrequenz).³²

Sobald konservative Therapien wie medikamentöse, physiotherapeutische oder chirurgische Maßnahmen keine Wirkung mehr zeigen, ist die Verwendung eines Implantats, in den meisten Fällen aus Titan, der letzte Ausweg. (Abbildung 3).³³

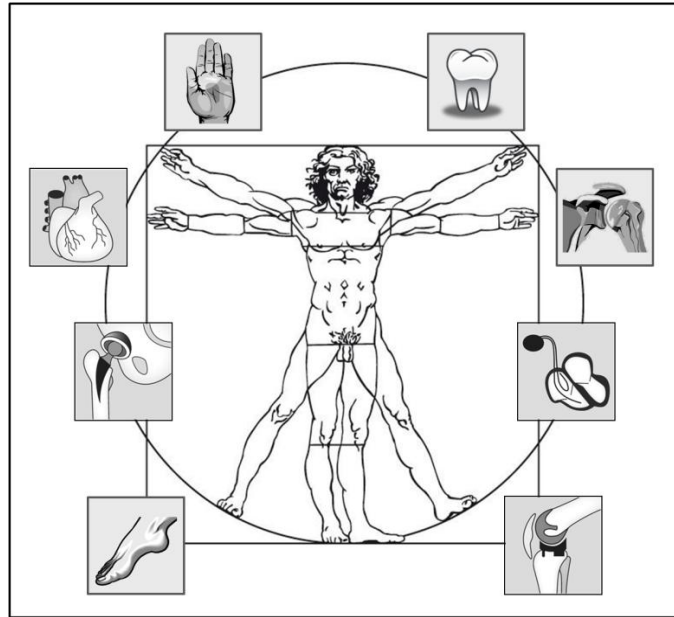


Abbildung 3: Mögliche Bereiche für Implantate im Körper

1.4 Eigenschaften und Anwendungen von TiO_2 und Nanopartikeln aus TiO_2

Ob Knieprothesen, Herzschrittmacher oder Knochenimplantate - der Einsatz von Titan ist aus der modernen Medizin nicht mehr wegzudenken.

Titan ist ein Übergangsmetall, welches in verschiedenen Mineralien vorkommt und sich über die gesamte Erdkruste verteilt. TiO_2 kann dabei in der Form des Rutil, Anatas und Brookit und in Mineralien wie Titanit ($\text{CaTiO}[\text{SiO}_4]$), Perowskit (CaTiO_3) und Ilmenit (FeTiO_3) auftreten. Die Härte von Titan ist vergleichbar mit einigen Stählen, jedoch hat es eine nur halb so große Dichte.

Titan, sowie seine Verbindungen und Legierungen, werden in einer Vielzahl von Bereichen verwendet, zum Beispiel in der Luft- und Raumfahrt, in der chemischen Industrie, bei der Energieerzeugung, in der Automobil- und Chemie-Industrie, im Sportartikelbereich sowie in der Dental- und Medizintechnik. So ist zum Beispiel TiO_2 -Pulver als Weißpigment in Farben, Papier und Zahncremes sowie als UV-Absorber in Sonnenschutzcremes zu finden. Wegen ihres großen Brechungsindex werden dünne Titandioxidfilme ebenso als Interferenzfilter und Antireflexionsschichten (zum Beispiel auf Brillengläsern) aufgebracht.^{34,35}

Unter den metallischen Werkstoffen gelten Titan und seinen Legierungen als die am besten geeigneten Materialien für medizinische Anwendungen, weil sie die komplexen Werkstoffanforderungen im physiologischen Kontext besser erfüllen als viele anderen konkurrierende Werkstoffe, wie beispielsweise rostfreier Stahl oder Cr-Co-Legierungen. Die kommerzielle Anwendung begann in den späten 1940er Jahren, als Werkstoff für Implantate fand Titan erst in den 1960er Jahren Verwendung.

Die große Vielzahl von Anwendungen ist aufgrund seiner Eigenschaften, wie einer hohen Festigkeit bei geringer Dichte, einer überlegenen Korrosionsbeständigkeit, sowie seiner chemischen und biologischen Inertheit zu erklären.

Diese ist darauf zurück zu führen, dass Titan spontan eine dünne, zusammenhängende Oxidschicht von etwa 3-7 nm ausbildet, welche passivierend wirkt. Diese „Schutz“-Oxidschicht kann durch Oxidation bzw. Einstellung von Temperatur, Sauerstoff und Wasser gezielt hergestellt werden.^{34,35}

TiO₂-Oberflächen besitzen darüber hinaus „antibakterielle“ Eigenschaften. Diese können durch den photochemischen Effekt erklärt werden: Da es sich bei TiO₂ um einen Photohalbleiter handelt, kann Licht Elektronen-Loch-Paare erzeugen, sobald die Energie der Photonen größer als die Bandlücke E_g ist. Sie beträgt für TiO₂ in der Anatas Kristallstruktur 3.2 eV bzw. bei Rutil ca. 3.0 eV. Dies entspricht der Energie von Licht mit einer Wellenlänge von 390 nm. Somit können Elektronen durch UV-Licht angeregt werden, was in Gegenwart von O₂ und H₂O zur Ausbildung von hochreaktiven Hydroxylradikalen und Perhydroxylradikalen führt. Diese Radikale können Mikroorganismen abtöten und sind damit für die selbstreinigenden Eigenschaften von TiO₂ verantwortlich.^{35,36}

Eine der wichtigsten Eigenschaften von TiO₂-Oberflächen ist die Kompatibilität gegenüber biologischen Medien, die auf die amphotere Eigenschaft der Hydroxylgruppen auf der Metalloberfläche bei Kontakt mit Wasser zurückzuführen ist. Experimenten von MC CAFFERTY *et al* ergaben, dass Titan mit zehn Hydroxylgruppen pro nm² die zweithöchste Dichte an reaktiven Gruppen auf der Oberfläche besitzt und auf Grund des basischen Charakters des Metalloxids die chemische Adsorption von Molekülen (mit sauren Eigenschaften) ermöglicht.³⁷

Abhängig vom pH-Wert der Lösung und des isoelektrischen Punktes (IEP) des Oxids entstehen an der Grenzfläche von TiO₂ zur flüssigen Phase negative oder positive

Oberflächenladungen. So wird bei einem physiologischen pH-Wert von 7.4 eine hohe Anzahl an Hydroxylgruppen und eine geringe negative Oberflächenladung beobachtet. Somit kommt es zu einer verstärkten Wechselwirkung zwischen Proteinen und der Oberfläche, wie es zum Beispiel beim Biofouling (Kapitel 1.1) zu beobachten ist.

1.4.1 Nanopartikel

Nicht nur Titan als medizinischer Werkstoff, sondern auch Nanopartikel sind heutzutage von großem Interesse, besonders im chemischen und medizinischen Bereich. Mit einer Partikelgröße von 1 bis 100 nm unterscheiden diese sich oft in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften gegenüber dem grobkörnigen Festkörper.

Diese Tatsache ist damit zu erklären, dass die spezifische Oberfläche im Verhältnis zum Volumen größer wird, je kleiner die Partikel werden. Bei einem Nanopartikel mit einem Durchmesser von 10 nm befinden sich 20% aller Atome an der Oberfläche, bei einem Partikel mit einem Durchmesser 2 nm befinden sich hingegen schon 80% an der Oberfläche, wodurch es zu einer höheren Reaktivität kommt.³⁸

Dadurch finden sie breite und vielversprechende Anwendungen als Katalysatoren, magnetische Nanopartikel in der Medizin, Wirkstoffträger, Adsorptionsmittel, bei der bildgebenden Diagnostik und als Sensoren.^{39,40,41,42,43,44}

1.5 Komplikationen bei der Verwendung von TiO₂ in der Medizin

Die Veränderung von Oberflächen, um gezielte Materialeigenschaften zu erhalten, ist für die Anwendung beispielsweise in der Industrie, der Marintechologie,⁴⁵ der Hygienetechnologie,⁴ als Biosensoren, in der Pharmazie bei Wirkstoffen⁴⁶ und auch in der Implantologie von besonderer Bedeutung.⁴⁷

Dies kann zum Beispiel bei der Interaktion von Biomaterialien mit einem biologischen Milieu besonders wichtig sein, da ein hohes Risiko an Kontaminationen, aufwändigen Reinigungsabläufen, verminderter Produktion und Effizienz und höhere Kosten auftreten können.^{3,4}

Besonders deutlich wird dies bei der Ausbreitung von Biofilmen und einer Resistenz gegenüber Antibiotika. Diese Resistenz kann eine Vielzahl von schwersten Komplikationen hervorrufen; hier ist die periprothetische Infektion zu nennen.

Heutzutage zählt *Staphylococcus aureus* zu den häufigsten Erregern bei Knocheninfektionen und *Staphylococcus epidermis*, Streptokokken sowie gramnegative Keime (z.B. *E. coli*) als häufigste Ursache von Gelenkinfektionen.^{48,49}

Die Gefahr einer Infektion ist dabei abhängig von der Infektionskraft des jeweiligen Erregers, dem Immunsystem (körpereigener Wirkmechanismus, z.B. die Phagozytose) des Patienten, den Eigenschaften des befallenen Gewebes und der sogenannten kritischen Keimmasse.^{50,51}

In Europa finden jährlich 800000 Neuimplantationen statt. In Deutschland sind es jährlich mehr als eine Million Zahnimplantate, 220000 Hüft-Endoprothesen (kompletter Ersatz des Hüftgelenks) sowie mehr als 175000 bei Knie-Endoprothesen. Heutzutage lässt sich jedes wichtige Gelenk ersetzen: Nicht nur Hüfte, Knie, Schulter, Ellbogen (1000 Implantationen) und Sprunggelenk (5000 Implantationen), sondern auch die Gelenke in Zehen oder Fingern werden künstlich ersetzt. Wird dabei eine Infektionsrate von nur 1.5% angenommen, so kommt es etwa zu 12000 periprothetischen Infektionsfällen (bei 800.000 Neuimplantationen). Realistisch muss insgesamt aber mit einer weit höheren Infektionsrate von bis zu 17% ausgegangen werden.⁵²

2 Kenntnisstand und Zielsetzung

2.1 Natürliche Klebstoffe

Eine Vielzahl von Lebewesen verlässt sich bei ihren Aktivitäten wie Bewegung, Schutz und Selbstverteidigung, auf Adhäsion an biotischen und abiotischen Objekten.

Diese Bioadhäsion kann unter funktionalen Gesichtspunkten in zwei Typen eingeteilt werden: die temporäre und die permanente Adhäsion.

Ein charakteristisches Beispiel für temporäre Adhäsion wird von Geckos zum Kletten an Oberflächen verwendet, indem ihre speziellen Fußhaare, die sogenannten Setae, eine so große Oberfläche besitzen, dass zwischen ihnen und dem Untergrund Anziehungskräfte (van-der-Waals-Kräfte) wirken (Abbildung 4).⁵³



Abbildung 4: Permanente Anhaftung einer Miesmuschel und die temporäre Anhaftung eines Geckos durch seine Fußhärchen⁵³

Ein Beispiel permanenter Adhäsion ist ein natürlicher Klebstoff, der es den Miesmuscheln ermöglicht sich selbst unter Wasser an die Oberflächen von Meeresküsten anzuheften.

Dabei handelt es sich nicht um van-der-Waals-Kräfte, sondern um ein besonderes „Klebe“-Protein, dem Muscheladhäsionsprotein MAP (mussel adhesion protein), welches für dieses Phänomen verantwortlich ist.

2.2 Muschel Adhäsionsproteine

Viele marine Organismen, wie zum Beispiel Miesmuscheln (*Mytilus edulis*) haben ausgezeichnete Strategien entwickelt, um sich mit einer Art von Fäden an sämtliche Oberflächen ihres Lebensraumes, wie Schiffsrümpfe, Steine oder Holzplanken, anheften zu können.⁵³

Diese permanente Anheftung wird durch ein besonderes „Klebe“ Protein ermöglicht, das sogenannte Muscheladhäsionsprotein MAP (mussel adhesion protein).

Abbildung 5 zeigt zum einen (rechts) die Substrukturen des „Adhäsionsfußes“, zum anderen (links) die Struktursequenz des Proteins, aus welchem der „Fuß“ aufgebaut ist.

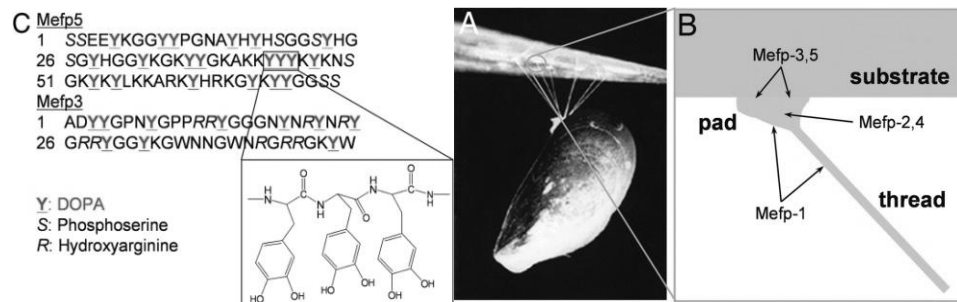


Abbildung 5: Muscheladhäsionsprotein MAP⁵⁴

1952 gelang es C.H. BROWN erste Erkenntnisse über die Zusammensetzung zu erhalten und eine *ortho*-Catechol Einheit zu vermuten.⁵⁵ J.H. WAITE gelang es schließlich das „Klebeprotein“ zu isolieren und zu charakterisieren. Er entdeckte eine signifikante Menge an 3,4-Dihydroxyphenyl-L-alanin (L-DOPA) in der Proteinstruktur.

Außerdem erkannte er, dass es fünf verschiedene Subtypen gibt, deren Gemeinsamkeit die Verbindung DOPA (3,4-Dihydroxy-L-phenylalanin) ist. Sie unterscheiden sich in ihrer Konzentration von einigen mol% bis hin zu 27 mol% im „Adhäsionsfuß“ (Mefp)-3 (21 mol %) und Mefp-5 (27 mol%) der Muscheln (Abbildung 5).^{54,56}

2.3 Siderophore

Gram-negative Bakterien nutzen Enterobaktin, einen hoch affin bindenden, C_3 symmetrischen Siderophor, welcher zu einer Stoffgruppe von rund 200 metallbindenden Substanzen gehört und unlösliches Eisen(III)-Oxidhydroxid aus der Erde heraus komplexiert (Abbildung 6). Bakterien schleusen es in ihre Zellen, in denen es zu Eisen(II) reduziert wird, um ihren Eisenbedarf zu decken. Die maximale Konzentration an unkomplexierten Eisen(II)-Ionen in Lösung bei einem biologischen pH-Wert ist nicht größer als ungefähr 10^{-18} M und somit ist die Bioverfügbarkeit äußerst gering.⁵⁷

Ein Mensch mit einem Körpergewicht von 70 kg, hat etwa 5 g Eisen (10^{-3} M) in seinem Körper. Die Zelle eines Bakteriums (10^{-9} cm^3) benötigt 105 bis 106 Eisen-Ione pro Generation, um die benötigte interne Konzentration von 10^{-6} M aufrecht zu erhalten.⁵⁸

Das regulierende Protein FUR (ferric uptake regulator) kontrolliert dabei die Eisenaufnahme in vielen Bakterienarten, indem es die Produktion der Siderophore anregt und die Zell-Transportkanäle für Eisen öffnet.⁵⁹ Da die Komplexbindungskonstante der Siderophore für Fe(II)-Ionen sehr viel geringer ist als für dreiwertiges Eisen, wird das Metallion in der Zelle nach der Reduktion zu Eisen(II) aus dem Komplex gelöst und ist somit frei verfügbar.⁶⁰

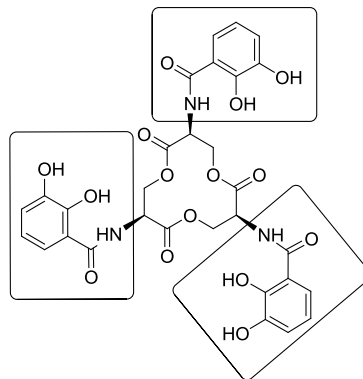


Abbildung 6: Der Siderophor Enterobaktin mit seinen drei Bindungseinheiten

Liegt das Enterobaktin als freier, ungebundener Ligand vor, stehen die Hydroxygruppen in *ortho*-Stellung zu den benachbarten Amid-Sauerstoff-Atomen und bilden mit diesen Wasserstoffbrückenbindungen aus.

Bei der Deprotonierung erfolgt die Umwandlung in die *trans*-Form, indem das Amid-Proton Wasserstoffbrückenbindungen zu dem Sauerstoff-Atom in *ortho*-Stellung ausbildet^{61,62} (Abbildung 7).

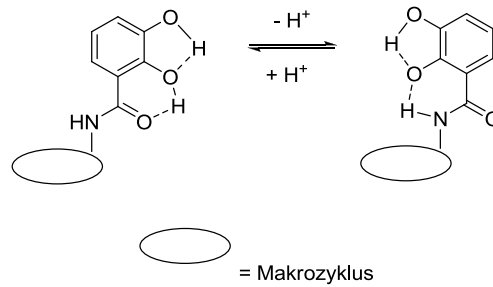


Abbildung 7: Neutrale (links) und deprotonierte (rechts) Teilstruktur des Enterobaktins

Das koordinierte Enterobaktin besitzt eine sechszählige Geometrie mit einer Δ Konfiguration (rechts drehender „Propeller Twist“) am Metallzentrum (Abbildung 8 rechts). Diese helikale Chiralität ist ein Teil der Erkennungsprozesse für Siderophor Rezeptoren.^{63,64}

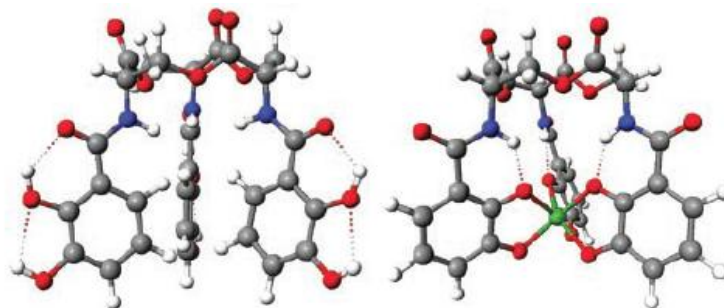
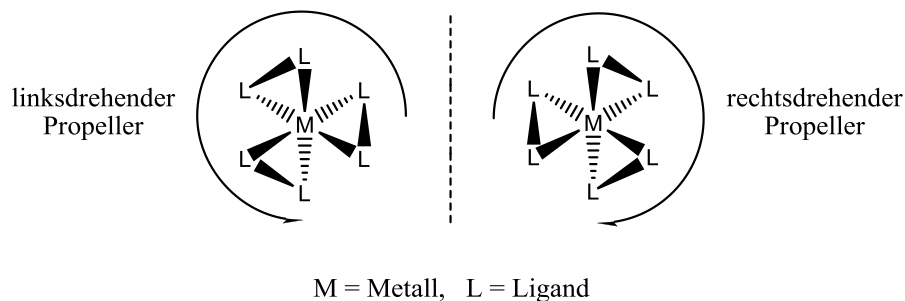


Abbildung 8: Die unterschiedlichen Geometrien des Enterobaktins, in seiner gebundenen und ungebunden Form mit einem Eisen Ion

Auf Grund der genannten Eigenschaften handelt es sich bei Enterobaktin um das Siderophor mit der höchsten Komplexbindungskonstante für Fe(III) ($K = 10^{52} \text{ M}^{-1}$). Diese ist sogar höher als für einige synthetisch hergestellte Metallchelatoren, wie zum Beispiel EDTA. Das vielfältige Vorkommen von Enterobaktin, nicht nur bei Mikroorganismen, sondern auch bei marinen Bakterien, macht es so zu einem interessanten Forschungsobjekt.^{65,66}

Strukturelle Mimetika des Muscheladhäsionsproteins MAP oder des Enterobaktins wären daher vielversprechende Kandidaten für die Entwicklung leistungsfähiger Metalloberflächenbinder für eine vielseitige Anwendung, besonders im medizinischen Sinne.

2.4 Chelatoren

Es existiert ein erhebliches klinisches Interesse an der Entwicklung neuer Chelatoren. Sie können zum einen zur Behandlung von Krankheiten eingesetzt werden, beispielsweise bei Vergiftungen mit Metallionen wie Eisen (Hämochromatose), Kupfer und Zink. Zum anderen können sie die bildgebende Diagnostik im Bereich Radiomarkierungen verbessern, um Bereiche im Körper gezielt sichtbar zu machen, die von diagnostischem Interesse sind.⁶⁷

Neuste Erkenntnisse deuten darauf hin, dass gerade die Anreicherung von Eisen, Kupfer und Zink in gebundener Form mit dem β -Amyloid-Peptid (Plaque) Auslöser für eine Vielzahl von neurologischen Erkrankungen wie Alzheimer, Chorea Huntington oder Parkinson ist.⁶⁸

Eine Hoffnung bietet dabei die Entwicklung von lipophilen Chelatoren, die in der Lage sind die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden und eine geringe zytotoxische Wirkung aufweisen.^{69,70}

Generell müssen bei der Entwicklung von Chelatoren für die klinische Anwendung eine Reihe von Voraussetzungen erfüllt werden, wie zum Beispiel die Selektivität und Affinität für Metallionen, die kinetische Stabilität der Komplexe, die Bindungskapazität (Konzentration freier Liganden) sowie eine hohe Bioverfügbarkeit und geringe Toxizität.⁷¹

2.5 Die Entwicklung von Catecholderivaten für Oberflächenbeschichtungen und deren besondere Vorteile

Erkenntnisse über die Zusammensetzung und die Haftungseigenschaften des Muscheladhäsionsproteins MAP (mussel adhesion protein) und die Entdeckung von 3,4-Dihydroxyphenyl-L-Alanin (L-DOPA) ermöglichte die Entwicklung von Catecholderivaten für Oberflächenbeschichtungen.

Besonders die frühen Forschungsarbeiten von WAIT⁷² und GRÄTZEL⁷³ und die darauf aufbauenden Forschungsergebnisse von MESSERSMITH^{53,74-76} und GADEMANN⁷⁷⁻⁸¹ zeigen die Besonderheit und vielversprechenden Anwendungsmöglichkeiten von monomeren und polymeren Catecholderivaten für funktionale Verbundmaterialien.⁸²

Dabei wurden kleine bifunktionale Catecholderivate, beispielsweise Dopamin als Ankergruppe für die Oberflächenbeschichtung verwendet.

Eine kleine Auswahl von geeigneten Verbindungen ist in Abbildung 9 dargestellt.

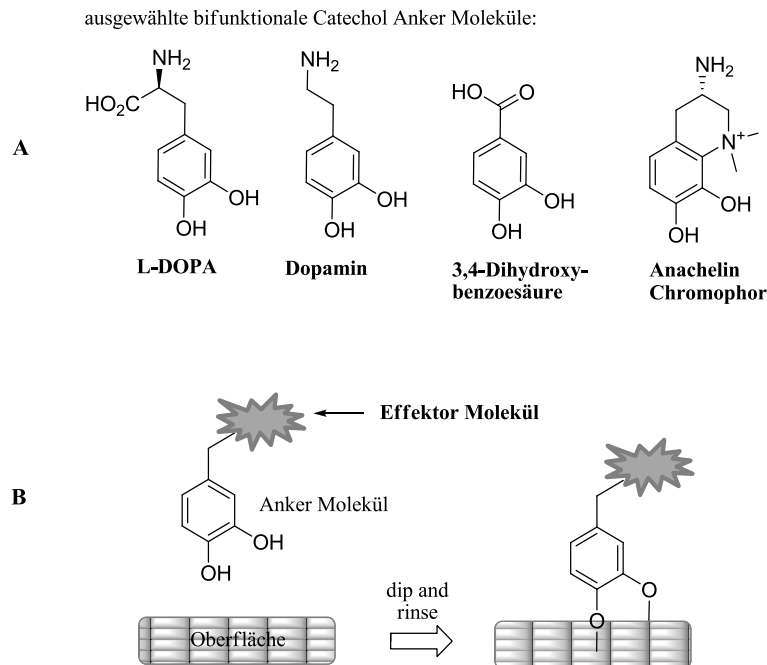


Abbildung 9: (A) Oberflächenmodifizierung mit bifunktionalen Catecholderivaten nach einem (B) Dip und Rinse Protokoll

Diese Ankergruppen konnten mit unterschiedlichsten Effektormolekülen wie Poly(ethylenglycol), Biopolymeren, Wirk- und Farbstoffen, konjugiert und für eine spezifische Modulation der Oberflächeneigenschaften verwendet werden.⁸²

Dabei wurde u.a. die Oberflächenbeschichtung mit Polydopamin und funktionalisierten Dopaminderivaten, wie zum Beispiel PEG-Dopamin, gegen häufig auftretende Proteinadsorptionen untersucht.^{77,83-84}

Ein weiterer Vorteil dieser Catecholderivate ist dabei eine einzigartige und äußerst stabile Anhaftung auf einer Vielzahl von anorganischen und organischen Materialoberflächen, wie beispielsweise Edelmetallen, Metallen, Metalloxiden, Glimmer, Silicaten, Keramik und sogar Polymeren.

Der Adhäsionsmechanismus von Catecholderivaten an Substraten ist trotz intensiver Forschung noch nicht ganz verstanden, dennoch sind verschiedene Formen der Interaktion von Catecholgruppen mit Oberflächen vorgeschlagen worden.

GRÄTZEL *et al.* untersuchten die Komplexierung von verschiedenen Catecholderivaten an TiO_2 -Nanopartikeln und kamen zu der Erkenntnis, dass durch eine Deprotonierung der Hydroxygruppe des Catechols eine Bindung zur TiO_2 -Oberfläche möglich ist (Abbildung 10).⁸⁵

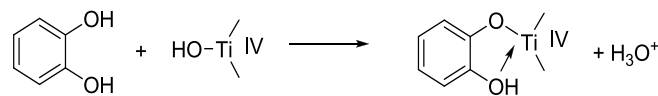


Abbildung 10: Die deprotonierte Hydroxygruppe des Catechols bindet an das Ti-Atom

RAJHL *et al.* führten die Untersuchung weiter und erkannten mittels Röntgenstrukturanalyse eine bidentate Bindungsstruktur von Dopamin an Fe_2O_3 -Nanopartikeln von zwei Hydroxygruppen des Catechols zu jeweils einem Fe-Atom.⁸⁶

MESSERSMITH, RODRIGUEZ und CHEN *et al.* gelangten schließlich experimentell zu der Erkenntnis, dass Dopaminderivate auf TiO_2 -Oberflächen adsorbieren (Abbildung 11). Diese Bindung erfolgt sowohl als monodentate (einzähnige) Bindung, die nur eine Wasserstoffbrückenbindung ausbildet, wobei die zweite Hydroxygruppe eine Bindung mit dem Ti-Atom des Oxids eingeht und zusätzlich den Komplex stabilisiert (Abbildung 12), als auch als bidentate (zweizähnige) Bindung, wobei sich entweder eine Chelatbindung oder eine Brückenbindung ausbildet (Abbildung 13).

Catecholderivate binden an die Oberfläche Ti-OH , indem eine Deprotonierung mit anschließender Ausbildung eines Charge-Transfer-Komplexes stattfindet. Die bidentate Brückenbindung ist dabei bevorzugt die Chelatbindung für Dopaminderivate an TiO_2 -Oberflächen und die monodentate für Hydroquinonderivate an TiO_2 -Oberflächen. Diese Ergebnisse konnten durch Simulationen ebenfalls bestätigt werden.^{75,87}

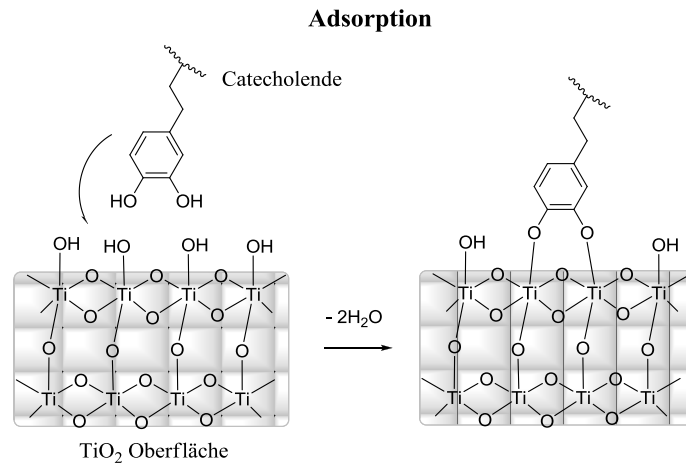


Abbildung 11: Koordination des Catecholderivats an die TiO₂-Oberfläche und Eliminierung von zwei H₂O Molekülen

Molekulare Adsorption, monodentate Bindung

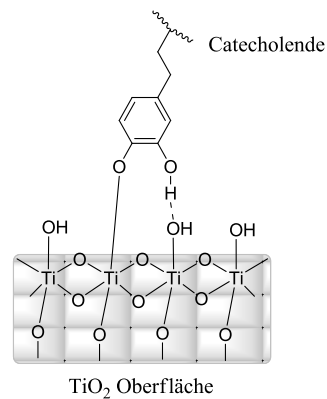


Abbildung 12: Molekulare Adsorption durch Wasserstoffbrückenbindungen. Durch die Adsorption kann eine monodentate Bindung erfolgen

Molekulare Adsorption, bidentate Bindung

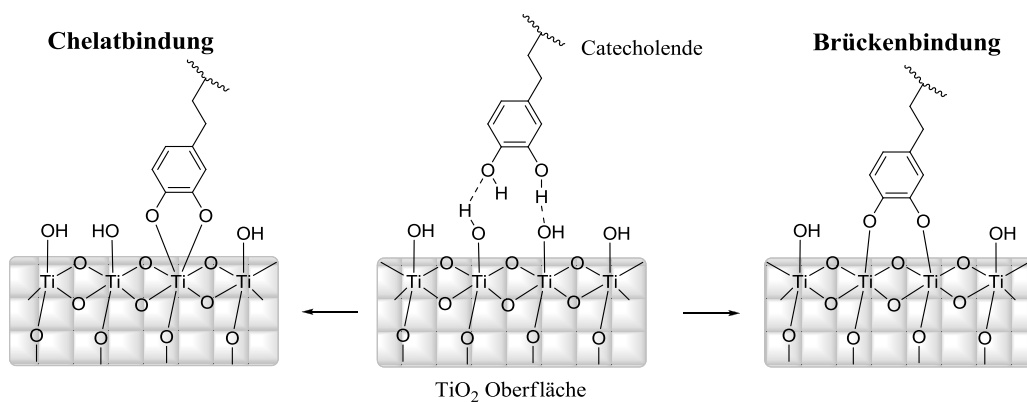


Abbildung 13: Molekulare Adsorption durch Wasserstoffbrückenbindungen. Durch die Adsorption kann eine bidentate Bindung erfolgen

Die starken Adhäsionen von Catecholderivaten zu Substraten, wie Glimmer, Polymere und Glas, können sowohl auf kovalente als auch auf nicht-kovalente Bindungen, wie π -Bindungen, Wasserstoffbrückenbindungen und weitere Interaktionen zurückgeführt werden.

Experimente haben ebenfalls gezeigt, dass die Einführung von Substituenten an der Catecholeinheit einen großen Einfluss auf die Bindungsstärke zu einer Oberfläche haben kann. Die Einfügung einer stark elektronenziehenden Nitro-Gruppe, zum Beispiel an der sechsten Position der Catecholeinheit von Dopamin und DOPA, verändert den pK_a Wert der Hydroxygruppe signifikant (von ca. $pK_a > 8.5$ zu 6.7). Des Weiteren wird die Stabilität bezüglich der Oxidierbarkeit der Catecholeinheit durch die Nitro-Gruppe beträchtlich verbessert. Dadurch kommt es zu einer leichteren Adsorption der Catecholderivate und einer schnelleren und gezielten Modifikation der Metalloberfläche.⁸⁸⁻⁸⁹

2.6 Adamantan und multivalente Oberflächenbinder

Seit seiner Entdeckung im Jahr 1933 hat Adamantan **1**, auf Grund seiner Symmetrie und Anwendbarkeit, die Aufmerksamkeit vieler Chemiker auf sich gelenkt.⁹⁰⁻⁹³

Damals gelang es LANDA und Mitarbeitern Adamantan aus einer Erdölprobe zu isolieren.⁹⁴

1941 war es PRELOG und Mitarbeitern das erste Mal möglich Adamantan zu synthetisieren.⁹⁵

Heutzutage kann es kostengünstig im Großmaßstab mit Hilfe einer Syntheseroute nach SCHLEYER hergestellt werden.⁹⁶

Um Adamantan als Grundgerüst für multivalente Oberflächenbinder einzusetzen, kann es über die Brückenkopfatome selektiv vierfach substituiert und dadurch sowohl als Gerüst für einen monovalenten, bivalenten, trivalenten als auch tetravalenten Oberflächenbinder genutzt werden (Abbildung 14).

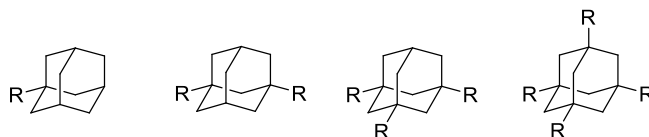


Abbildung 14: Substitutionsarten von Adamantan

Die Einführung funktioneller Gruppen erfolgt durch Substitution oder Radikalreaktionen in elektrophilen Medien wie Brom, Schwefelsäure oder Salpetersäure.

Nicht nur diese speziellen Eigenschaften des Adamantans und seiner Derivate sind von hohem wissenschaftlichem Interesse. Besonders der Adamantyl-Rest als molekulare Struktureinheit in chemischen Verbindungen und Arzneistoffen ist von großer Bedeutung. In den letzten Jahren sind viele neue Arzneistoffe mit Adamantyl-Funktion im Molekül zum therapeutischen Einsatz entwickelt worden (Abbildung 15).⁹⁰

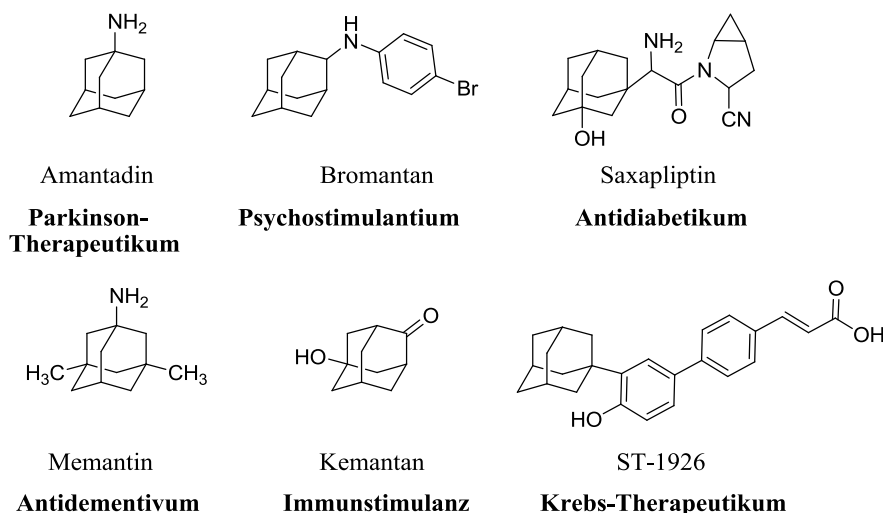


Abbildung 15: Wirkstoffe mit Adamantan-Strukturelement

Ein Beispiel ist das 1-Aminoadamantan (Amantadin), das zur Behandlung von Morbus Parkinson und verwandten Krankheiten, sowie als antivirales Medikament gegen Influenza vom Typ A beim Menschen eingesetzt wird.

Des Weiteren spielen Grundgerüste auf Adamantanbasis im Bereich der Oberflächenbeschichtung eine besondere Rolle. Thiole, Disulfide und Thioether, sowie deren Adamantanderivate haben eine starke Tendenz beispielsweise auf Goldoberflächen zu binden und bilden damit selbstorganisierte Monoschichten (SAMs).^{97,98,99}

Die vielen Vorteile, die Adamantan und seine Derivate bieten, erklären die intensiven Untersuchungen in vielen anderen Bereichen. Von den vielfältigen potentiellen Anwendungen kann man unter Anderem das Forschungsgebiet der molekularen Mikroelektronik und der Nanomaterialien nennen.⁹³ Die Ergebnisse dieser Arbeiten sowohl in der Pharmazie als auch in anderen Disziplinen können mit großer Spannung erwartet werden.

2.7 Zielsetzung

Das Ziel dieser Arbeit kann in vier Teile untergliedert werden: (1) Synthese und Charakterisierung von modularen, biomimetischen Catecholderivaten; (2) Immobilisierung und Charakterisierung von Monoschichten dieser Verbindungen auf Ti- und Zn-Metalloberflächen und Nanopartikeln; (3) Stabilitätsuntersuchungen der beschichteten Metalloberflächen gegenüber Puffersystemen; (4) Wirksamkeit der beschichteten Metalloberflächen gegenüber Proteinadsorption und Toxizitätsuntersuchung mit Hilfe von Stammzellen.

(1) Das Hauptaugenmerk dieser Arbeit lag in der Synthese von biomimetisch, tetraedrisch, rigiden Grundgerüsten für die mögliche Beschichtung von unterschiedlichen Oberflächen.

Diese neuartigen Oberflächenbinder sind dabei modular aufgebaut und bestehen aus einem zentralen, tetrasubstituierten Adamantankern, der mit drei Ankergruppen, variabler Seitenkettenlänge $n = 0-3$ und einem Effektormolekül an der vierten Position versehen werden kann (Abbildung 16).

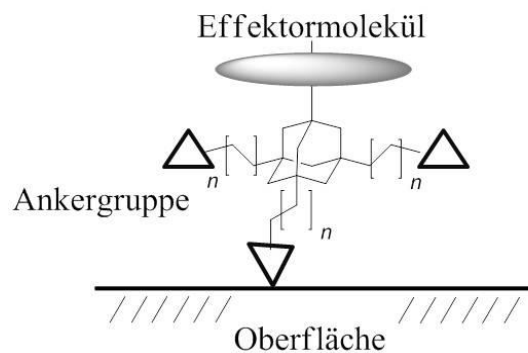


Abbildung 16: Neuartiger Oberflächenbinder auf Adamantanbasis¹⁰⁰

Diese modularen Ankersysteme können jeder Oberflächenart individuell angepasst werden. Zum Beispiel kann eine Immobilisierung auf Metall- oder Metalloxid Oberflächen mit Hilfe von Ankergruppen in Form von Catecholderivaten erfolgen.

Darüber hinaus ist die Darstellung von Chelatoren zur Metallkomplexierung mit Hilfe dieser Catecholderivate möglich.

Eine Beschichtung von Knochen- oder Zahnoberflächen, welche aus Apatit bestehen, kann mit Ankersystemen bestehend aus Bisphosphonatderivaten realisiert werden.

Durch eine Verknüpfung der Adamantanderivate mit Effektormolekülen, wie Polymeren, Wirkstoffen, Farbstoffen, Kohlenhydraten usw. ist außerdem eine gezielte und wirksame Modifizierung der Oberfläche möglich. Ein Lösungsansatz gegen das „Faulen“ von Metalloberflächen durch Bakterienbefalls auf Grundlage des Effektormoleküls Poly(ethylenglycol) (Abbildung 17),

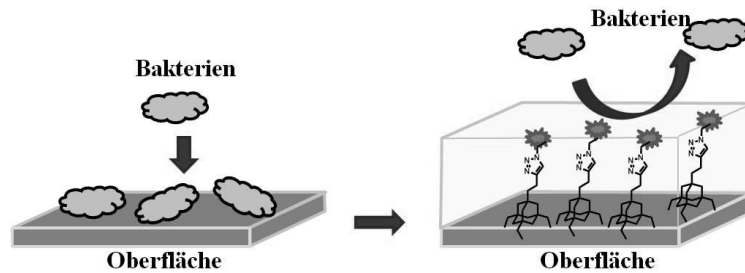


Abbildung 17: Antibakterielle Beschichtung

oder eine Beschichtung von Apatit, sei es medikamentöser Zielrichtung oder die Anwendung eines Klebers für den Knochen-Metall oder Knochen-Knochen/Zahn-Kontakt (Abbildung 18) wäre denkbar.

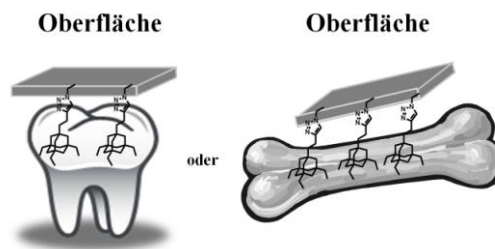


Abbildung 18: Möglicher Knochen/Zahnkleber für unterschiedlichste Oberflächen für den regenerativen Aufbau

(2) Die Immobilisierung der Adamantanderivate sollte durch ein selbst entwickeltes Dip-Coating Verfahren erfolgen und die Charakterisierung der Monoschichten mittels verschiedener, moderner Verfahren der Oberflächenanalytik durchgeführt werden.

(3) Da häufig benutzte Methoden zur Oberflächenmodifizierung auf Grund der Stabilität und Stärke der Bindung der jeweiligen Beschichtung beschränkt sind, sollten Stabilitätsuntersuchungen an den beschichteten Metalloberflächen durchgeführt werden, um deren Beständigkeit aufzuzeigen.

Diese Überprüfung der Stabilität soll durch einen Vergleich der multivalenten Ankersysteme **2** mit einem monovalenten Referenzmolekül **3** und einer Beanspruchung mittels pH-Wert und Temperaturveränderung sowie mechanischer Beanspruchung erfolgen.

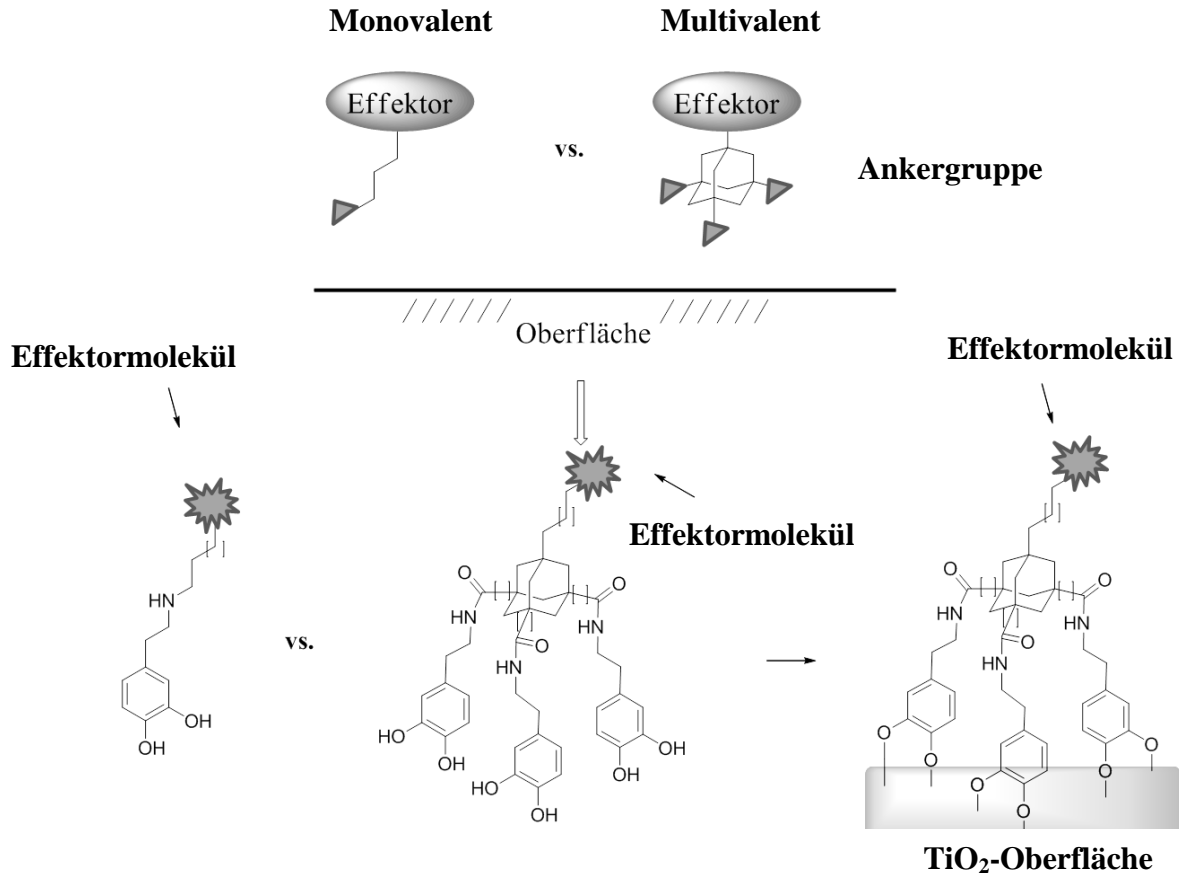


Abbildung 19: Monovalenter Oberflächenbinder versus multivalenter Oberflächenbinder

(4) Zu guter Letzt erhofft man sich durch in vitro-Assays die Wirksamkeit der beschichteten Metalloberflächen gegenüber Proteinadsorption und Toxizitätsuntersuchung mit Stammzellen durchführen zu können und Erkenntnisse zu erhalten, wie Proteine und Zellen auf die neuartigen Beschichtung und die jeweiligen Oberflächenbinder reagieren. Diese Erkenntnis ist für eine spätere medizinische Anwendung unverzichtbar.

3 Resultate und Diskussion

3.1 Übersicht

In den folgenden Kapiteln (Kapitel 3.3) werden zunächst die Synthesen der zentralen, tetrasubstituierten multivalenten Adamantan Grundgerüste aufgeführt, woraufhin die Kupplung der Ankergruppen in Form von unterschiedlichen Catecholderivaten für die Funktionalisierung der Metalloberflächen folgt.

Des Weiteren wird die Funktionalisierung des vierten Brückenkopfatoms am Adamantangrundgerüst mit verschiedensten Effektormolekülen wie Farbstoffen und Poly(ethylenglycol) präsentiert (Kapitel 3.8).

Ab Kapitel 3.10 werden die Ergebnisse der durchgeführten Assays vorgestellt.

Die Funktionalisierung der Metalloberflächen umfasst die Beschichtung mit Hilfe eines Dip-Coating Verfahrens (Kapitel 3.13) auf TiO_2 - und ZnO -Oberflächen.

Danach folgt die Überprüfung mittels moderner Oberflächenanalytik (Kapitel 3.14, 3.15) und die Überprüfung der Antifouling-Eigenschaften durch ein Protein-Assay mittels Blut (Kapitel 3.16).

Die Kontrolle und der Beweis der Stabilität der Beschichtung (Kapitel 3.18) und die Biokompatibilität durch Stammzellen-Assays (Kapitel 3.17) beenden die Arbeit.

3.2 Adamantangerüste

Um ein vierfach substituiertes Adamantangerüst mit drei gleichen und einem unterschiedlichen Substituenten zu erhalten, gibt es bekannterweise zwei Reaktionswege (Abbildung 20).

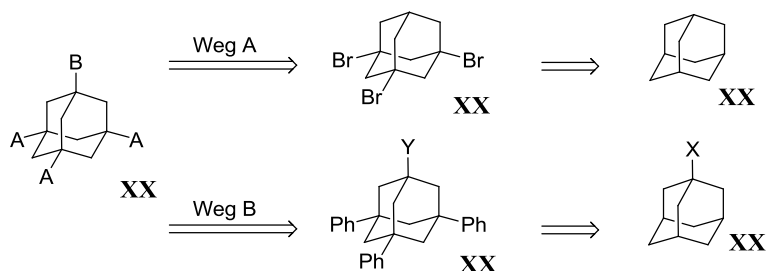


Abbildung 20: Retrosynthetischer Reaktionsweg

Bis zum heutigen Tag konnten dadurch eine Vielzahl von Derivaten des Adamantans dargestellt werden, die ihre Anwendung in vielen Bereichen finden.^{90-93,101-102,103-106}

Der limitierende Faktor sowohl bei bekannten Adamantanderivaten,⁹⁷ als auch bei Dendrimeren,¹⁰⁷⁻¹⁰⁸ die u.a. für die Oberflächenmodifizierung verwendet werden, ist dabei eine gleichartige Substitution des Grundgerüsts.

Durch sie ist eine Immobilisierung auf der Oberfläche möglich, eine nachträgliche Einführung einer weiteren Funktionalität dennoch nicht.

Folglich war es nun u.a. Aufgabe dieser Doktorarbeit vierfach substituierte Adamantangerüste mit drei gleichen Substituenten, für die Einführung der Ankergruppen und einem unterschiedlichen Substituenten, für die spätere Einführung der Effektormoleküle zu synthetisieren (Abbildung 21).

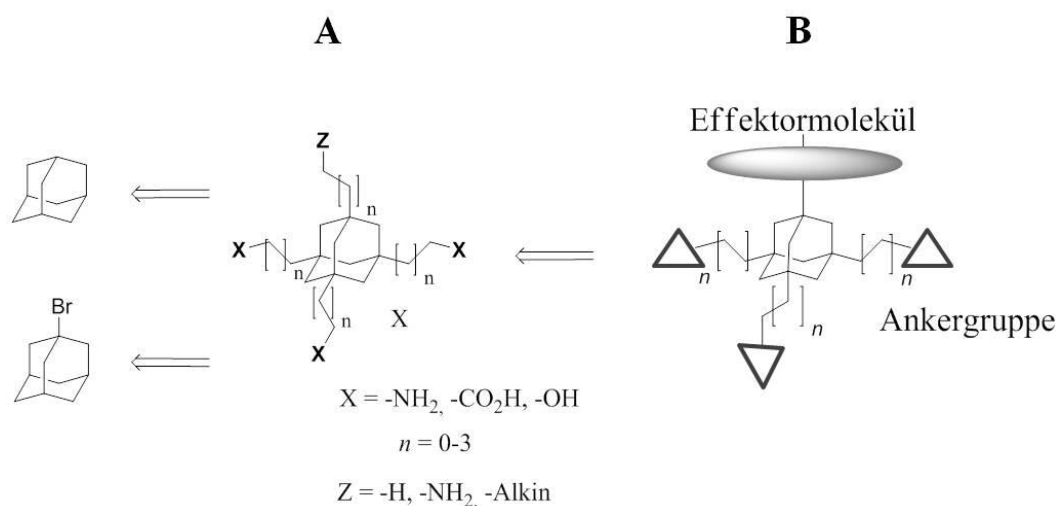


Abbildung 21: Vierfach substituiertes Adamantangerüst (A) und orthogonal funktionalisierter Oberflächenbinder (B)

Für die Einführung von Ankergruppen wie Dopamin **4**, Dihydroxybenzoesäure **5** und 1,2-Dihydroxybenzol **6** (Abbildung 22) war es daher notwendig, Funktionalitäten an der Alkylseitenkette des Adamantans wie Carbonsäuren (Kapitel 3.3), Amine (Kapitel 3.5.1), Alkohole (Kapitel 3.5.2) und Aktivester (Kapitel 3.5.3) einzuführen (Abbildung 21).

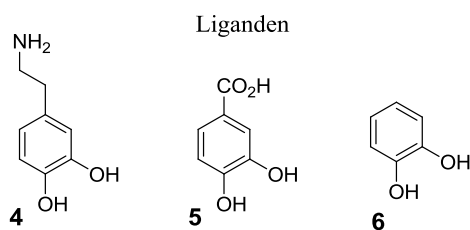


Abbildung 22: Verwendete Ankergruppen

Für die Einführung von Effektormolekülen wie Eosin Y **7** und Poly(ethylenglycol) **8** waren Funktionalitäten an dem Kopffragment des Adamantans bestehend aus einem Amin (Kapitel 3.3) oder einem Alkin (Kapitel 3.4) notwendig.

Die Darstellung des Kernfragments und die unterschiedliche Funktionalisierung des Kern- und Kopffragments soll im folgenden Abschnitt vorgestellt werden.

3.3 Kernfragmente

Als Kernfragmente der in dieser Arbeit darstellenden biomimetischen Verbindungen dienten Adamantanderivate, deren Syntheseprotokolle in der Arbeitsgruppe von Prof. MAISON entwickelt und optimiert wurden.^{109,110}

Abbildung 23 beschreibt die Synthese der Adamantantricarbonsäure **12** mit Einführung von Ethylen-Spacern in den Seitenketten.

Das käuflich erhältliche Adamantan **1** wird nach einem ionischen Mechanismus über eine Bromierung und einer radikalischen Reaktion in Kombination mit Acrylnitril in das Tricyanoethyladamantan **10** überführt. Über eine anschließende Hydrolyse des Nitrils zur Carbonsäure **11** und Ritterreaktion mit Brom, welches sowohl als Lewis-Säure als auch als Lösungsmittel fungiert, reagiert es nach einer weiteren Hydrolyse zum gewünschten Produkt **12**.

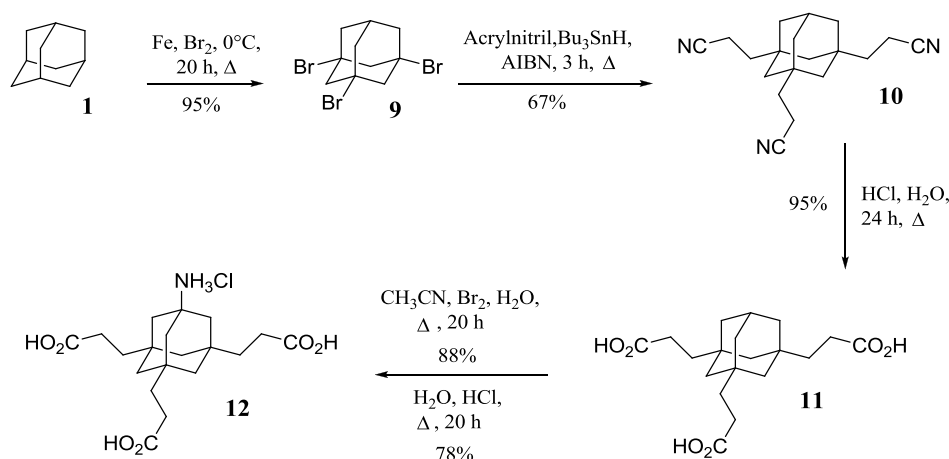


Abbildung 23: Synthese der Adamantanaminotricarbonsäure **12**

Abbildung 24 beschreibt die Synthese der Adamantantricarbonsäure **18** und die Einführung eines Ethylen-Spacers zwischen der Aminogruppe und dem Adamantankern.

In diesem Fall ist Monobromadamantan **13** die Ausgangsverbindung für den folgenden Syntheseweg, welches im ersten Schritt durch eine *Friedel-Crafts* ähnliche Reaktion in Gegenwart von AlCl_3 und Benzol in das Triphenyladamantan **14** überführt und anschließend mit Hilfe eines Phasentransferkatalysators¹⁰¹ an der vierten Brückenkopfposition bromiert werden kann. Durch eine radikalische Reaktion in Analogie zu Abbildung 23 kann ein Cyanoethylrest an dem Brückenkopfatom eingeführt und durch eine anschließende Oxidation der aromatischen Gruppen mit dem *in situ* hergestellten RuO_4 **17** dargestellt werden.¹⁰⁹ Durch

eine Hydrierung der Cyanofunktion am Brückenkopfatom kann das zweite Kernfragment **18** in guten Ausbeuten erhalten werden.

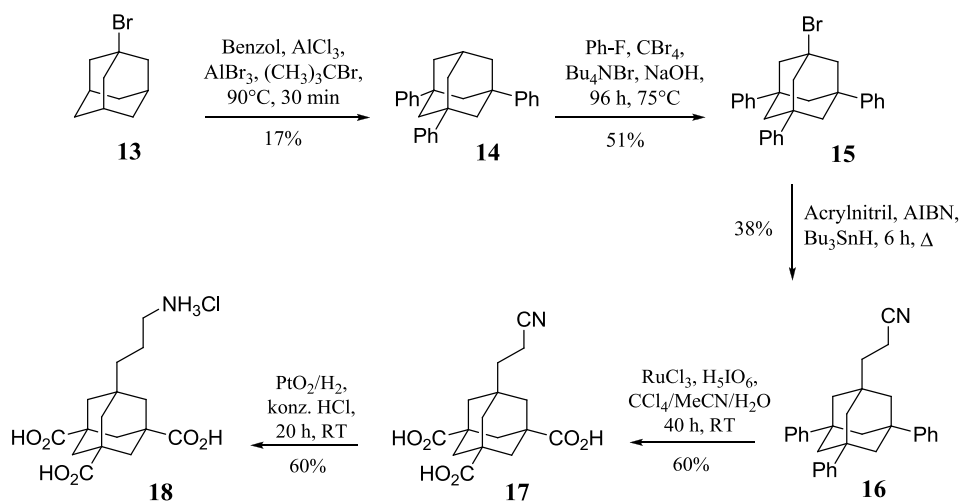


Abbildung 24: Synthese der Adamantanaminotricarbonsäure **18**

3.4 Funktionalisierung des Brückenkopfatoms am Adamantangrundgerüst

Für die Einführung einer Alkinfunktion am Brückenkopfatom des Adamantangrundgerüsts war es zuerst notwendig, die Carbonsäurefunktionen zu schützen. Dies wurde auf zwei unterschiedlichen Reaktionswegen erreicht (Abbildung 25).

Die erste Methode war die Methylierung mit SOCl_2 , MeOH in Gegenwart katalytischer Menge an DMF, wobei der gewünschte Methylester **19** in sehr guten Ausbeuten erhalten wurde.

Um Ester **20** auf einem zweiten Weg zu erhalten, wurde die Carbonsäure **12** mit (Trimethylsilyl)-diazomethan und MeOH umgesetzt. Obwohl diese Reaktion mit etwas besseren Ausbeuten durchzuführen ist, gab es dennoch zwei Probleme. Zum einen musste eine große Menge (Trimethylsilyl)-diazomethan eingesetzt werden, was diesen Teilschritt sehr kostspielig werden ließ. Zum anderen war es notwendig das Produkt säulenchromatographisch zu reinigen. Daher wurde bei allen weiteren Reaktionen die erste Reaktionsvariante mit SOCl_2 und MeOH favorisiert.

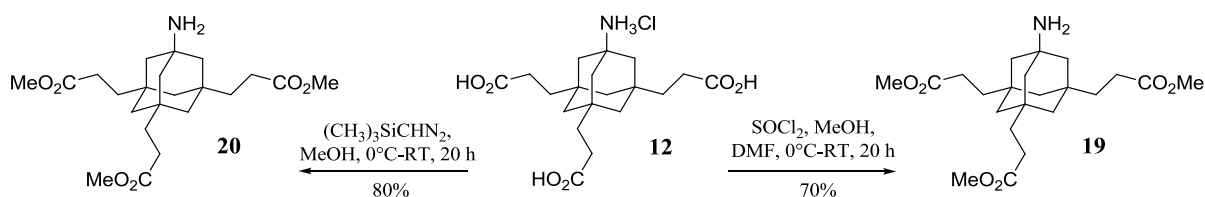


Abbildung 25: Schutz der Seitenkette

Ein sehr schönes Produkt konnte in Abbildung 27 erhalten werden. Um dies zu realisieren musste zuerst die Alkensäure (**21**, **23**) für die erste Reaktion in eine aktivere Spezies, den NHS Ester (**22**, **24**), überführt werden. Die erste Reaktion war der Versuch die Einführung mit Hilfe von *N*-Hydroxysuccinimid DCC zu realisieren, welcher leider nicht zum Produkt **22** führte. Ein erfolgreicher Umsatz konnte auf einfachem Wege mit *N*-Hydroxysuccinimid und EDC·HCl in DMF erzielt werden (Abbildung 27). Die gleiche Reaktion wurde ebenfalls in Dioxan durchgeführt. Es wurden dabei geringere Ausbeuten erhalten.

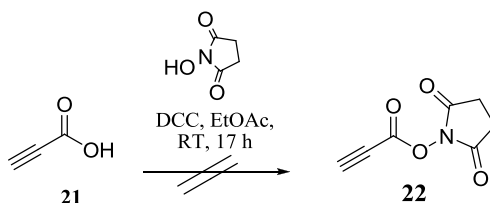


Abbildung 26: Einführung eines NHS-Esters

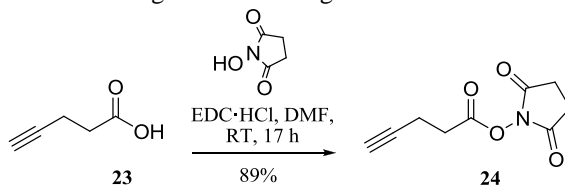


Abbildung 27: Einführung eines NHS-Esters

Für die Kupplung der Alkineinheit an das Kopfsegment des Adamantankerns wurde die Aminotricarbonsäure **12**, mit dem NHS-Ester der Pentinsäure **24**, in DMSO und Et_3N umgesetzt (Abbildung 28).

Diese Reaktion wurde ebenfalls in DMF durchgeführt. Auf Grund der geringen Löslichkeit der Edukte konnte allerdings keine vollständige Umsetzung erreicht werden. Die Alkincarbonsäure **25** konnte auf Grund ihrer Polarität, als Intermediat erhalten werden. Nach Säure-Base Wäsche wurde das Intermediat sofort weiter umgesetzt.

Das zweite Adamantanderivat mit einer Alkinfunktionalität **26** konnte dargestellt werden, indem der Triester **19** mit Hilfe von DCC in DMF mit Propiolsäure gekuppelt wurde. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte die Alkinverbindung **26** mit 95% Ausbeute erfolgreich erhalten werden. Die anschließende Entschützung des Triesters mit KOH in MeOH führte nicht zum gewünschten Produkt **27**, da eine Abspaltung der Alkinfunktion beobachtet wurde (Abbildung 28).

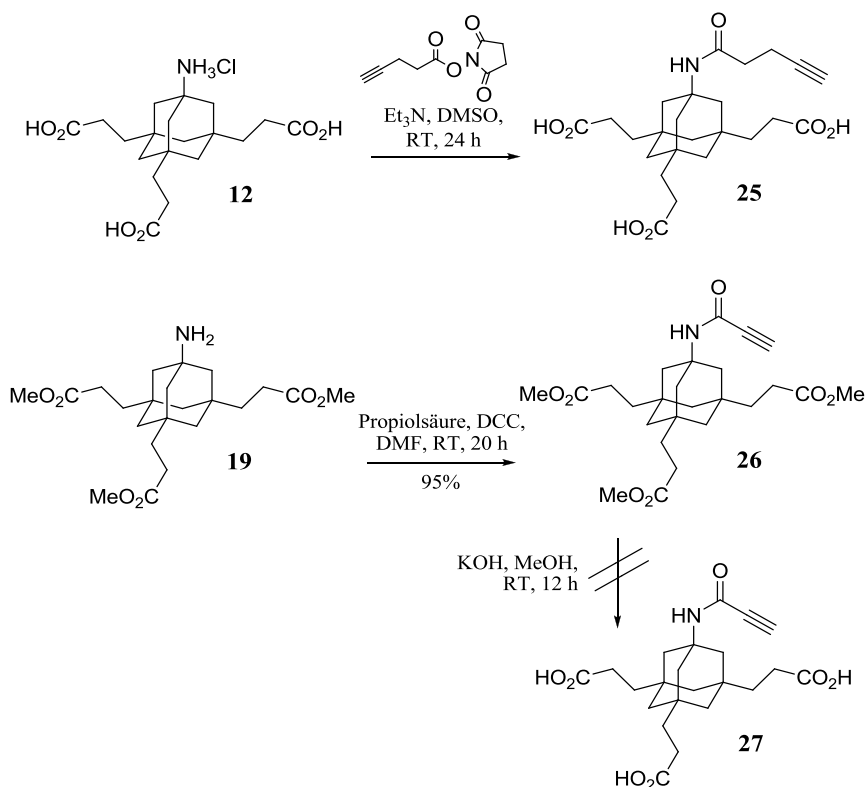


Abbildung 28: Einführung einer Alkinfunktion am Kopffragment

Es handelt sich bei diesen Alkinverbindungen um äußerst interessante Substrate, da man mit ihrer Hilfe Effektormoleküle über eine 1,3-dipolare *Huisgen-Cycloaddition* einführen kann.^{111,112}

3.5 Funktionalisierung der Seitenketten

In diesem Abschnitt soll die unterschiedliche Funktionalisierung der Seitenketten, u.a. im Hinblick auf die spätere Einführung der Ankergruppen, vorgestellt werden.

Dies beinhaltet die Darstellung von Aminen (Kapitel 3.5.1), Alkoholen (Kapitel 3.5.2) oder Aktivestern (Kapitel 3.5.3), gegebenenfalls mit unterschiedlichen Seitenkettenlängen.

3.5.1 Seitenketten mit Aminfunktion

Zur Darstellung von Adamantanverbindungen mit drei Aminfunktionen wurden unterschiedliche Syntheserouten beschritten, um sowohl rigide als auch flexible Derivate des Adamantans darzustellen.

Für die ersten beiden Wege diente Tribromadamantan **9** als Ausgangsverbindung. Um zu dem Triamin **29** zu gelangen, wurde das Tribromadamantan **9** einer Ritter-Reaktion unterzogen (Abbildung 29). Hierbei wurde das Edukt **9** in Acetonitril und konz. Schwefelsäure erhitzt, um zu dem dreifach acetylierten Triamin **28** zu gelangen, leider ohne Erfolg.

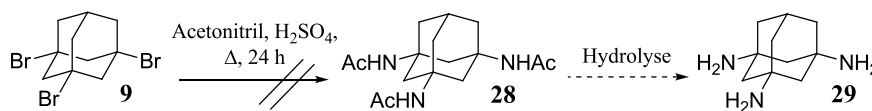


Abbildung 29: Ritter-Reaktion

Mit Hilfe einer photochemischen, radikalischen Substitution wurde desweiteren versucht, das Aminoadamantanderivat **31** zu erhalten. Dafür wurde das Tribromadamantan **9** mit NaCN und DMSO für 6 Stunden in einem Rayonet-Photoreaktor mittels UV Licht bei einer Wellenlänge von 254 nm belichtet, um die Kohlenstoff-Brom-Bindungen (267 kJ/mol) zu spalten. DMSO wurde aufgrund seiner guten Lösungsmitelegenschaften für Salze und seiner photochemischen Inertheit eingesetzt (Abbildung 30).

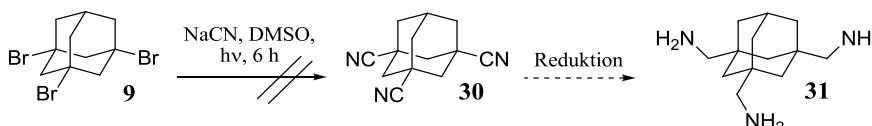


Abbildung 30: Photochemische Reaktion

Leider konnte auch hier kein Produkt erhalten werden. Es ist nicht ganz auszuschließen, dass es an der Quecksilberdampfampe lag, obwohl das Emissionsspektrum zu Beginn überprüft wurde.

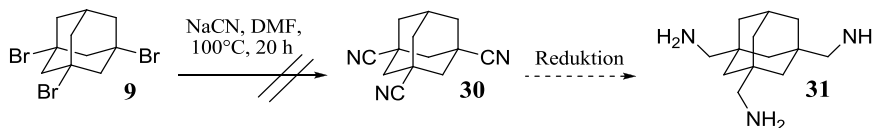


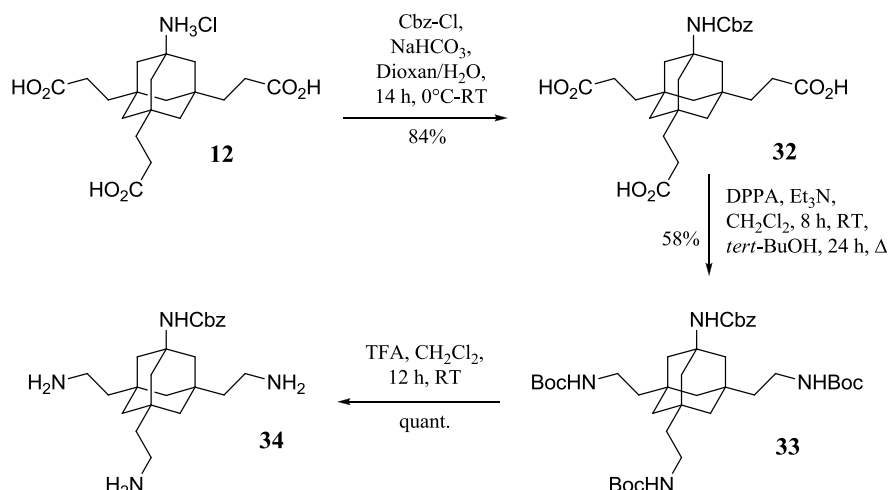
Abbildung 31: Umsetzung von Tribromadamantan **9** mit NaCN

Auch die Umsetzung von Tribromadamantan **9** mit NaCN in DMF bei 100 °C und 20 Stunden führte nicht zum gewünschten Produkt **30**.

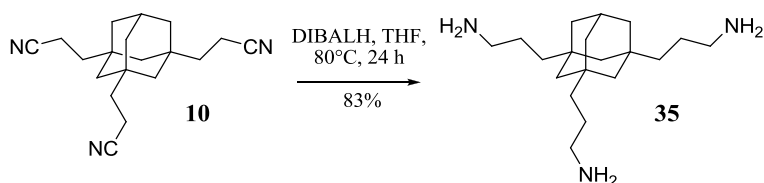
Ziel weiterer Experimente war die Umsetzung einer Curtius-Reaktion.¹¹³ Die Carbonsäurefunktion wird dabei mittels Diphenylphosphorylazid (DPPA) in das Säureazid umgewandelt, welches unter Abspaltung von Stickstoff und einer Sextett-Umlagerung des intermediär gebildeten Nitrens zum Isocyanat zerfällt. Lässt man dieses im letzten Schritt mit Wasser reagieren, erhält man das freie Amin, reagiert es hingegen mit einem Alkohol, erhält man das entsprechende Carbamat.¹¹⁴

Im Fall der Adamantanderivate wurde von einer Cbz-geschützten Aminotricarbonsäure **32** ausgegangen. Diese wurde 8 Stunden mit Diphenylphosphorylazid (DPPA) behandelt und anschließend mit *tert*-BuOH in der Hitze weiter umgesetzt, um nach säulenchromatographischer Reinigung das dreifach Boc-geschützte und einfach Cbz-geschützte Tetraaminadamantan **33** zu erhalten (Abbildung 32). Das Boc-geschützte Amin **33** konnte im letzten Schritt quantitativ mittels Trifluoressigsäure in CH₂Cl₂ entschützt werden, was zum freien Amin **34** führte.

Es wurde ebenfalls versucht das Isocyanat nicht in Alkohol sondern in Wasser zur Reaktion zu bringen. Hierbei konnte jedoch das freie Amin auf Grund seiner Polarität nicht von Verunreinigungen, welche zum Beispiel auf Grund der säulenchromatographischer Reinigung auftraten, abgetrennt werden. Diese Variante wurde daher nicht weiter verfolgt.

Abbildung 32: Curtius-Reaktion am Adamantanderivat **32**

Des Weiteren konnte Tricyanoethyladamantan **10** nach einem etablierten Protokoll mittels Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAL-H) zu Tris(aminopropyl)adamantan **35** reduziert werden (Abbildung 33).¹⁰⁹

Abbildung 33: Reduktion mittels DIBAL-H zum Trisaminopropyladamantan **35**

Um ein Aminderivat mit drei funktionalisierten Seitenketten und einem funktionalisierten Brückenkopfatom am Adamantagrundgerüst zu erhalten, wurde eine andere Syntheseroute gewählt. Dazu wurde die Boc-geschützte Aminotricarbonsäure **36** zunächst mittels Boran-Tetrahydrofuran-Komplex in ein Triol **37** überführt. Die freien OH-Funktionen wurden anschließend in zwei Varianten, einmal durch Methansulfonsäurechlorid (MsCl) und einmal durch Toluolsulfonsäurechlorid (TosCl), in gute Abgangsgruppen für S_N -Reaktionen transformiert. Die Substitution dieser Sulfonatgruppen mit Natriumazid und die anschließende Hydrierung dieser, sollte zum gewünschten Produkt **39** führen (Abbildung 34). Leider war es nicht möglich, das gewünschte Produkt zu erhalten, da das Erwärmen des Edukts in DMF mit Natriumazid bei 60°C zum Abspalten der Boc-Schutzgruppe führte. Obwohl die vorherige Stufe sauer, basisch und neutral gereinigt wurde, müssen vermutlich beim Abspalten des Mesylats bzw. Tosylats Spuren von Säure vorhanden gewesen sein, die das Abspalten der labilen Schutzgruppe begünstigten.

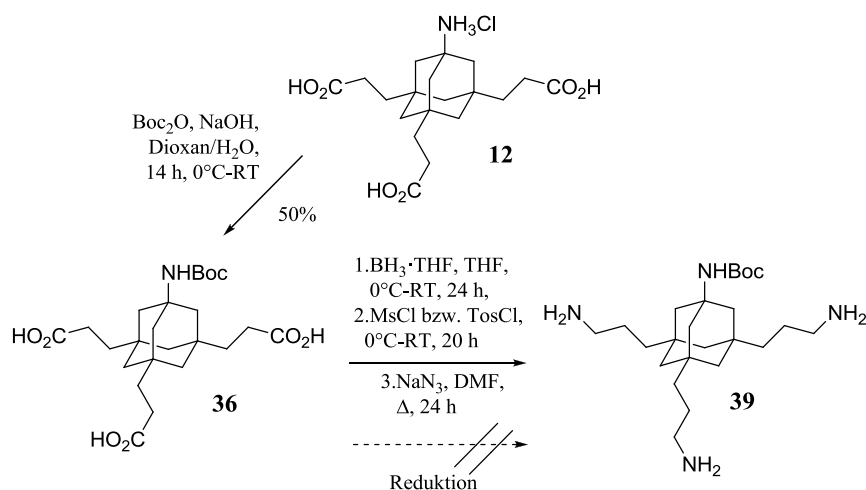


Abbildung 34: Variante A

Aufgrund dieser Erkenntnis wurde die Cbz-Schutzgruppe für die Aminfunktion gewählt (Abbildung 35).

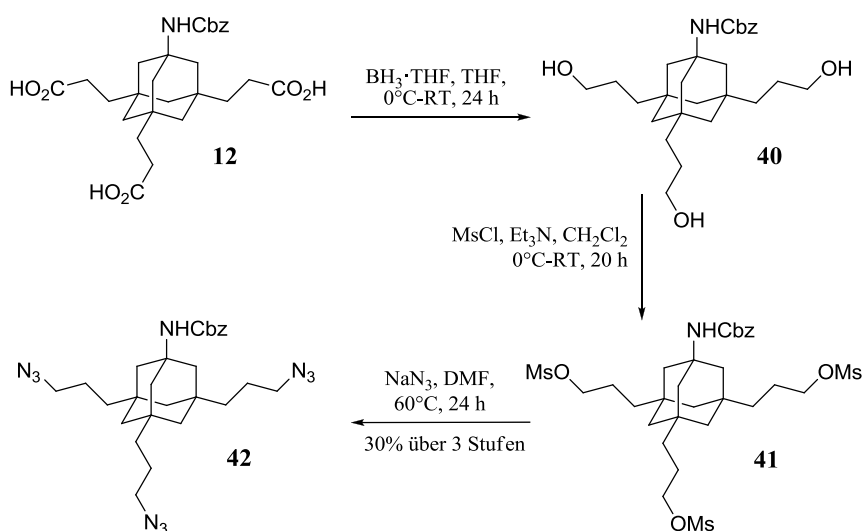


Abbildung 35: Variante B

Erneut wurde zuerst das Triol **40** generiert, das aufgrund seiner Polarität nicht aus der wässrigen Phase abzutrennen war, sodass es zusammen mit borhaltigen Nebenprodukten für die nächste Stufe zusammen eingesetzt wurde. Auch die Überführung des Alkohols **40** in die Mesylatverbindung **41** verlief reibungslos, sodass das gewünschte Azidderivat **42** mit stabilerer Cbz-Schutzgruppe nach säulenchromatographischer Reinigung erhalten werden konnte. Aufgrund der Stickstoff Regel gab es zu keiner Zeit Explosionsgefahr.¹¹⁵

Bei der eigentlichen Darstellung des Triamins **46** wurde das zuvor dargestellte Mono-Boc-geschützte Butandiamin **44** mittels $\text{EDC} \cdot \text{HCl}$ und HOBT an das Tricarboxyethyladamantan **11**

gekuppelt (Abbildung 36). Der erste Syntheseschritt verlief sehr gut und die Reinigung sollte sich ebenfalls als einfach herausstellen. Das Kupplungsreagenz EDC·HCl konnte leicht sauer, wässrig herausgewaschen werden. Das Kupplungsreagenz HOBt und Verunreinigungen konnten säulenchromatographisch abgetrennt werden, sodass das Boc-geschützte Amin **45** mit einer Ausbeute von 46% erhalten wurde.

Die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels TFA in CH_2Cl_2 verlief quantitativ zum gewünschten Produkt **46**.

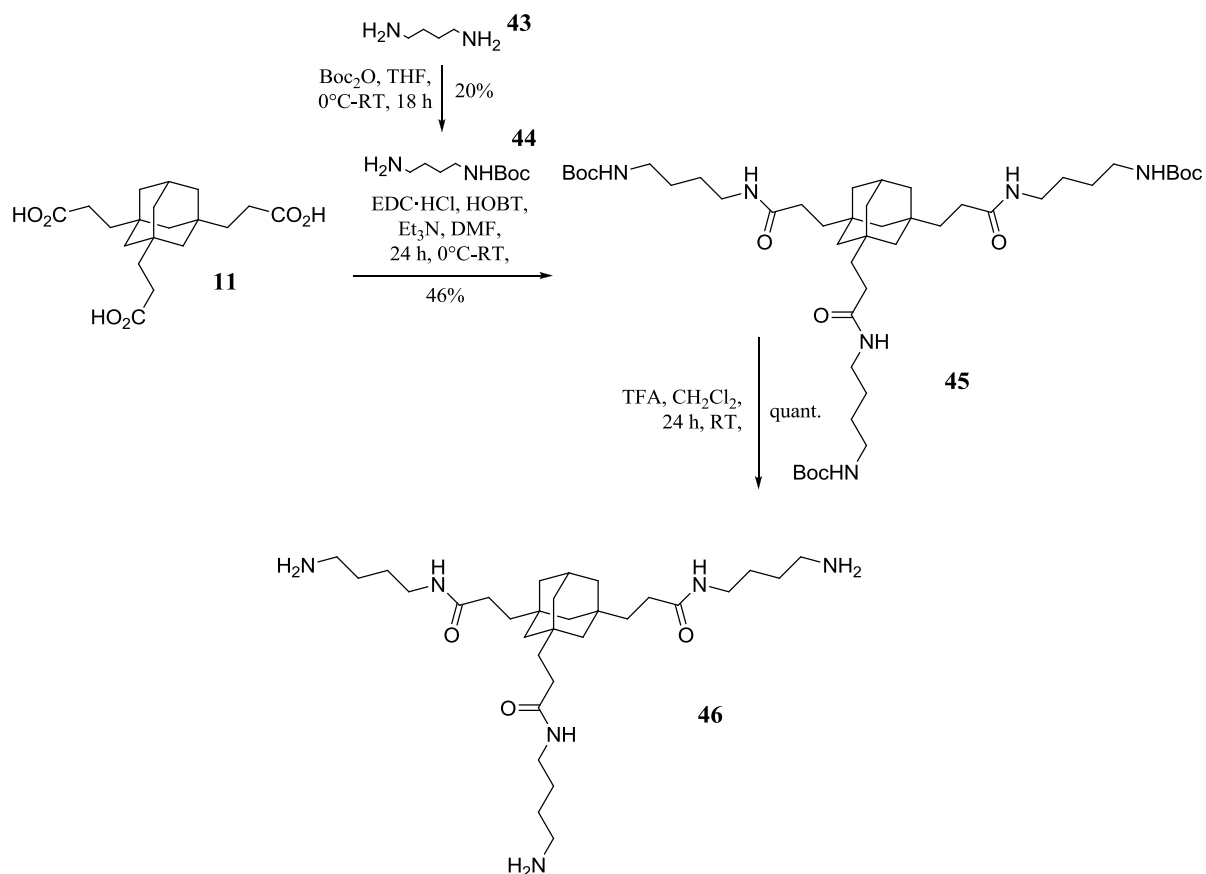


Abbildung 36: Darstellung des Triamins mit "Spacer" **46**

Trotz kleiner Probleme zu Beginn konnte anschließend erfolgreich ein Pool an sehr interessanten Derivaten des Triaminoadamants mit sehr guten Ausbeuten synthetisiert werden.

3.5.2 Seitenketten mit Alkoholfunktion

Als weitere funktionelle Einheit wurde 1,3,5-Adamantantriol **47** dargestellt. Dazu wurde in Anlehnung an eine Synthese von STETTER und Mitarbeitern Tribromadamantan **9** einer nukleophilen Substitution mit AgSO_4 in H_2SO_4 und H_2O unterworfen, wodurch **47** in guter Ausbeute erhalten wurde (Abbildung 37).¹⁰²

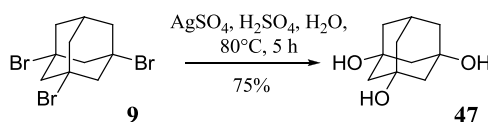


Abbildung 37: Darstellung des Hydroxyadamantans **47**

3.5.3 Seitenketten mit Aktivesterfunktion

Eine weitere hervorragende Methode, um spätere Ankergruppen einzuführen, geht von NHS-Aktivestern der Tricarbonsäure **11** aus.

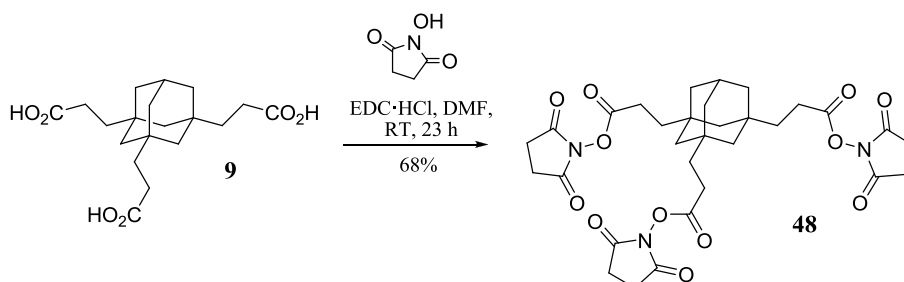


Abbildung 38: Darstellung des Aktivesters **48**

Hierbei wurde die Tricarbonsäure **11**, mit Hilfe von *N*-Hydroxysuccinimid und EDC·HCl in DMF, in den NHS-Ester **48** überführt. Aktivester **48** wurde dabei in 68% Ausbeute erhalten (Abbildung 38).

3.6 Monovalente Adamantangerüste

Für spätere Vergleiche zwischen trivalenten und monovalenten Adamantangerüsten sollte ein Adamantangerüst synthetisiert werden, bei dem die Einführung eines Effektormoleküls und einer Ankergruppe zur Oberflächenbindung möglich ist. Dafür wurde für die Darstellung des Adamantankerns eine bewährte Methode verwendet.

Die kommerziell erhältliche Adamantanmonocarbonsäure **49** wurde nach einem Protokoll von KHIL`CHEVSKI mittels Ritter-Reaktion durch Acetonitril und H₂O in siedendem Brom, sowie anschließender Hydrolyse mittels H₂O und HCl, in das Hydrochlorid der monovalenten Aminoadamantancarbonsäure **50** überführt (Abbildung 39).

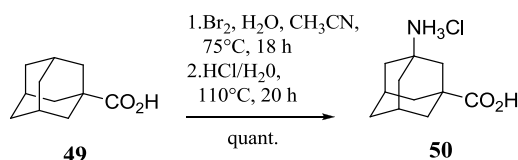


Abbildung 39: Darstellung der monovalenten Aminoadamantancarbonsäure **50**

Die Einführung der Alkinfunktion erfolgte nach dem gleichen Protokoll wie in Abbildung 28, indem die Pentinsäure in den NHS-Ester **24** überführt und anschließend an die Aminfunktion des Adamantangerüsts **50** gekuppelt wurde (Abbildung 40).

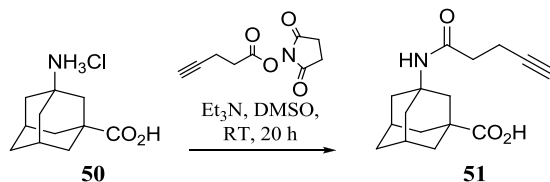


Abbildung 40: Einführung der Alkineinheit

Auch hier handelt es sich um ein Zwischenprodukt, welches nur als Intermediat und nach Säure-Base Wäsche sofort weiter umgesetzt wurde (Abbildung 48).

3.7 Catecholderivate als Oberflächenbinder

Damit die synthetisierten monovalenten und trivalenten Derivate als Oberflächenbinder fungieren können, war es notwendig sie, gemäß ihrer Bestimmung und Oberflächenart mit passenden Ankergruppen auszustatten. In den Kapiteln 2.2-2.3 wurde bereits ausführlich auf natürliche Oberflächenbinder eingegangen. Hieraus geht hervor, dass sich Catecholderivate hervorragend an Metalloberflächen, wie zum Beispiel Titan, haften können. Als geeignete Ankergruppe wurde daher Dopamin ausgewählt, welches als Schlüsselverbindung für die geplante Beschichtungsmethode fungiert. Dopamin, ein Neurotransmitter, entsteht bei der Verstoffwechselung von *L*-Tyrosin zu *L*-DOPA (*L*-Dihydroxyphenylalanin) und weiter zu Dopamin (Abbildung 41).

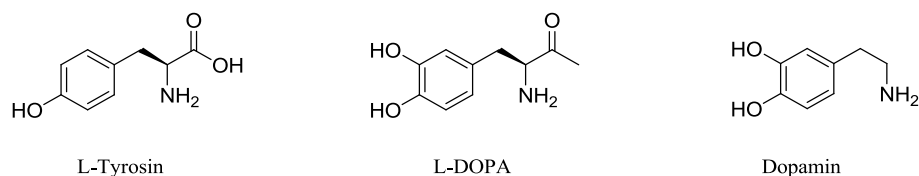


Abbildung 41: Dopaminderivate als mögliche Ankergruppen

3.7.1 Trivalente Catecholderivate auf Adamantanbasis

Für Verknüpfungen der Ankergruppe (Dopamin Hydrochlorid **52**) mit den Seitenketten des Adamantangrundgerüsts war es notwendig eine passende Kupplungsstrategie zu finden. Dies erfolgte durch ein Protokoll mit den Kupplungsreagenzien HOBt (1-Hydroxybenzotriazol) und EDC·HCl, mit Et₃N als Base (Abbildung 42).

Mit Hilfe dieser erfolgreichen Kupplungsstrategie konnte eine Vielzahl an trivalenten Catecholderivaten (**53-56**) mit und ohne funktionalisiertes Kopffragment dargestellt werden. Die Synthese des Triscatechols **53** erfolgte durch die Kupplung von Dopamin Hydrochlorid **52** an die Adamantantricarbonsäure **11**, welche in guten Ausbeuten auch im Grammaßstab durchzuführen ist.

Das zweite trivalente Catecholderivat **54** lässt sich über zwei Stufen darstellen, indem im ersten Schritt über einen NHS-Ester die Alkinfunktion an das Kopffragment des Adamantangrundgerüsts **12** und im zweiten Schritt Dopamin an die Seitenketten gekuppelt wird (Abbildung 28, Abbildung 42).

In einer weiteren Synthese konnten gleich zwei unterschiedliche Catecholderivate dargestellt werden. Im ersten Schritt wurde Dopamin an die Tricarbonsäure des Adamantangrundgerüsts **32** mit Cbz-funktionalisiertem Kopffragment gekuppelt. Im nächsten Schritt gelang durch eine Entschützung der Cbz-Funktion mit Pd/C und H₂ die Synthese des trivalenten Catecholderivats mit freier Aminfunktion als Kopffragment **56** (Abbildung 42).

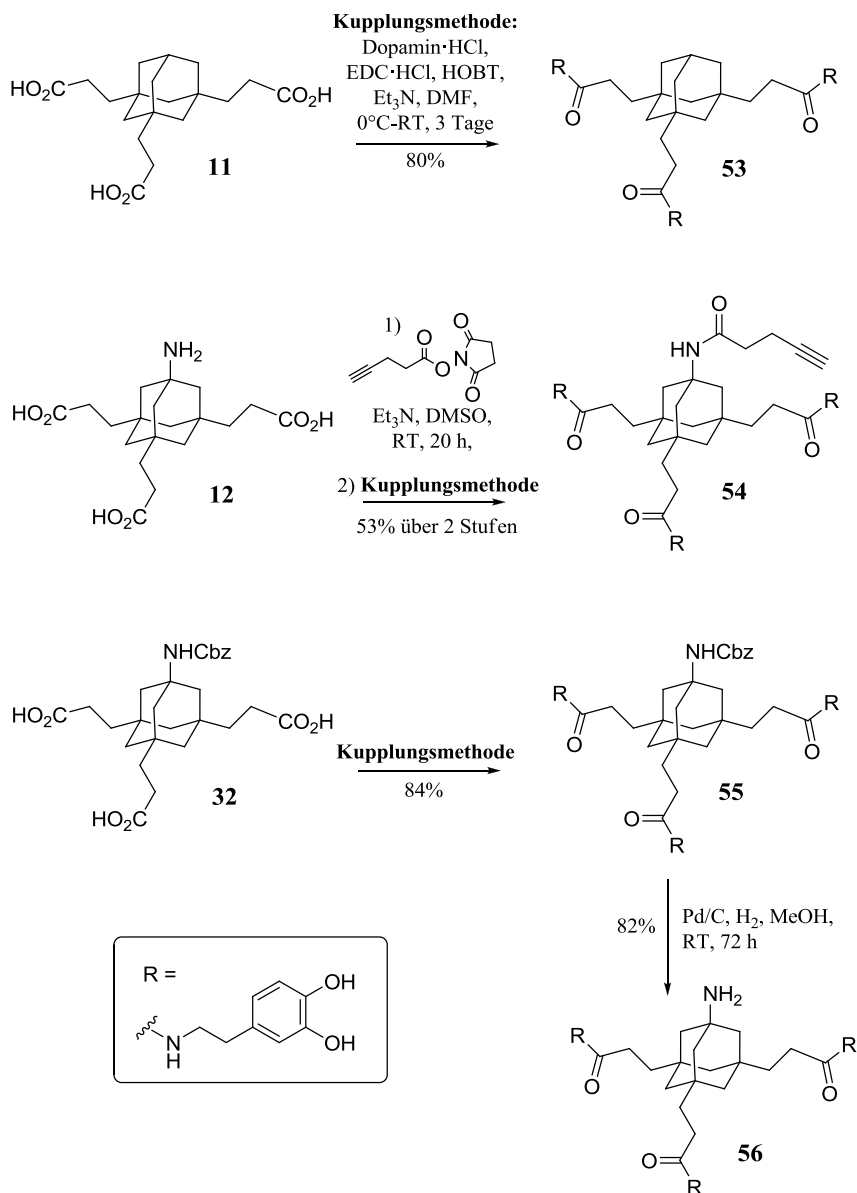


Abbildung 42: Einführung der Ankergruppe Dopamin 4

Durch eine allgemeine Aufarbeitungsvorschrift konnte das Kupplungsreagenz EDC·HCl und die Base Et₃N wässrig, leicht-sauer abgetrennt werden. Das Kupplungsreagenz HOBt wurde mittels Diethylether vom Produkt separiert. Somit konnten die trivalenten Catecholderivate mit einer hohen Reinheit und guten Ausbeuten dargestellt werden. Eine säulenchromatographische Reinigung ist auf Grund der hohen Polarität nicht möglich.

Des Weiteren war eine Kupplung des Dopamin Hydrochlorids **52** an die Adamantantricarbonsäure **18** nach der Kupplungsmethode möglich (Abbildung 43).

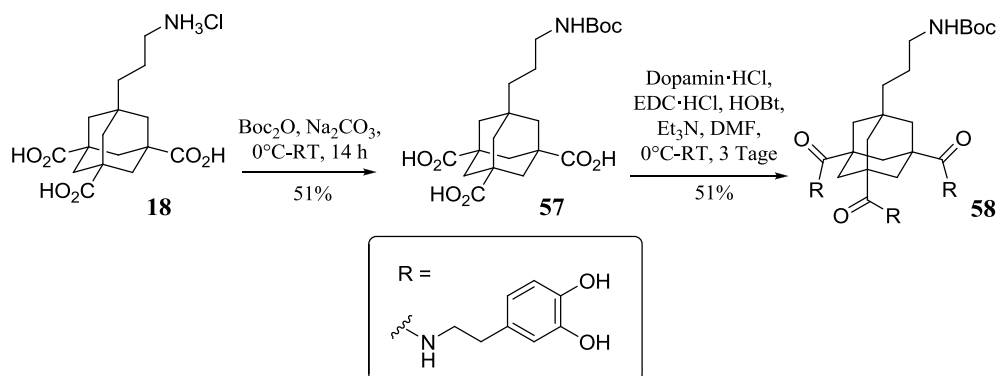


Abbildung 43: Einführung der Ankergruppe Dopamin **4**

Die im Vergleich etwas geringere Ausbeute lässt sich auf die sterisch gehinderten Säurefunktionen zurückführen, die einen möglichen Angriff der Kupplungsreagenzien und der Aminfunktion des Dopamins erschweren.

Ein weiteres, sehr interessantes Catecholderivat für die Oberflächenbeschichtung entstand bei der Reaktion zwischen dem Adamantantriamin **35** mit 3,4-Dihydroxybenzaldehyd zum Imin **59** (Abbildung 44).

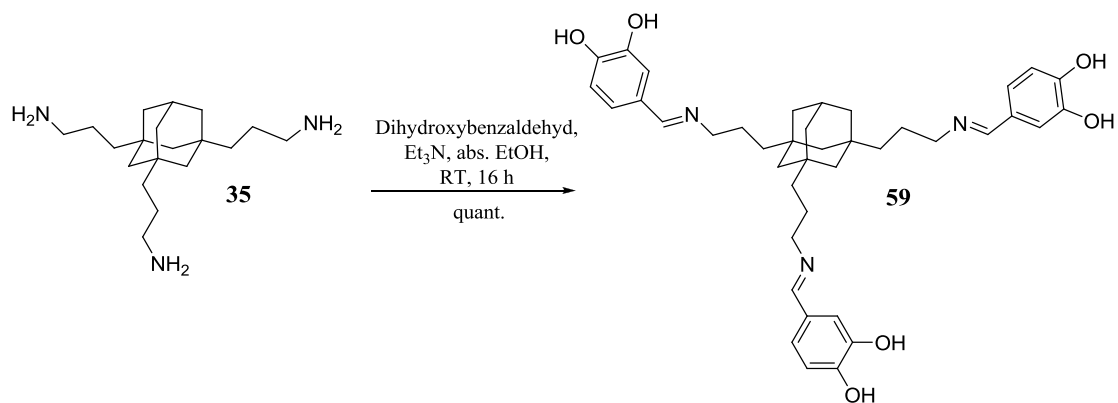


Abbildung 44: Darstellung eines Catecholderivats **59** über eine Iminbildung

Die beiden Edukte wurden in wasserfreiem Ethanol mit Et_3N zusammengegeben. Nach kurzer Zeit fiel das gewünschte Catecholderivat **59** aus, welches durch Zentrifugieren und Waschen mit Diethylether und wenig kaltem Ethanol quantitativ erhalten werden konnte.

3.7.2 Dopaminderivate

Wird Dopamin **4** unter alkalischen Bedingungen Sauerstoff ausgesetzt, wird seine Catecholeinheit zu einem Chinon oxidiert und ausgehend von diesem beginnt es zu polymerisieren (Abbildung 45).¹¹⁶ Polymerem Dopamin ist es möglich dünne Schichten auf Oberflächen, wie Metall, Glas und Keramik auszubilden. Die Bindung zur Oberfläche erfolgt sowohl kovalente als auch durch starke intermolekulare Interaktionen, wie Wasserstoffbrückenbindungen, Chelatkomplexe und π - π -Wechselwirkungen.^{117,118,119}

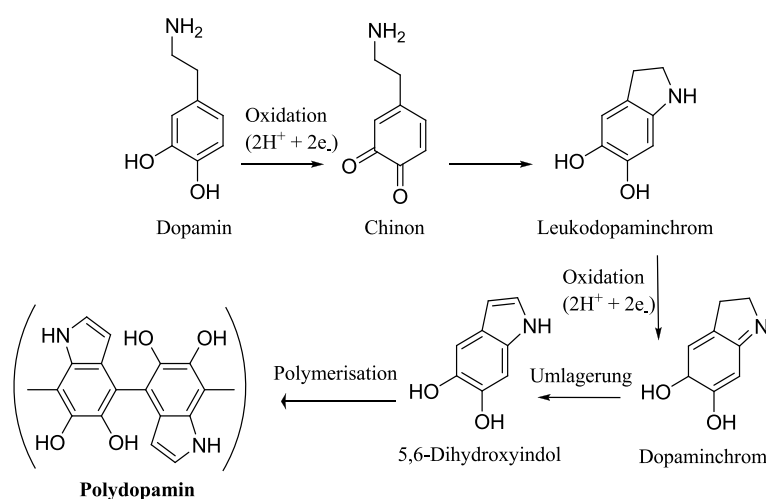
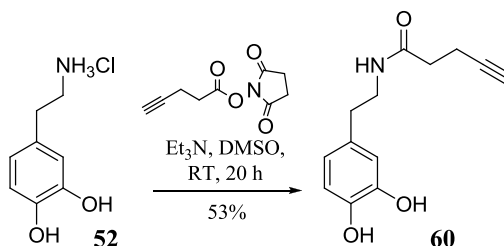


Abbildung 45: Bildung von Polydopamin

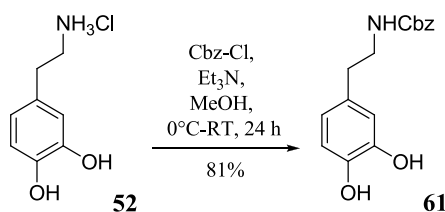
Um größtenteils diese Polymerisation zu umgehen, war es notwendig, die Aminfunktion des Dopamins **4** zum einen zu schützen, zum anderen mit Funktionalitäten zu versehen, um Effektormoleküle einfach und schnell einführen zu können.

Wie auch bei den trivalenten Catecholderivaten ist die Alkinfunktion eine hervorragende Funktionalität für weitere Reaktionen, wie die 1,3-dipolare *Huisgen-Cycloaddition* (Abbildung 28, Abbildung 40). In Analogie zu Kapitel 3.4 wurde hier ebenfalls der NHS-Aktivester der Pentinsäure mit Dopamin gekuppelt (Abbildung 46).

Aufgrund der Polarität des Dopaminderivats **60** ist eine säulenchromatographische Reinigung mit $CHCl_3$:MeOH (5-10%:95-90%) als Laufmittel ohne Probleme möglich und sehr einfach durchzuführen.

Abbildung 46: Acylierung von Dopamin Hydrochlorid **52** mit NHS-Pentinsäureester

Des Weiteren ist die Einführung einer Schutzgruppe an der Aminfunktion des Dopamin Hydrochlorids **52** über Cbz-Cl und Et₃N in MeOH mit sehr guten Ausbeuten realisierbar (Abbildung 47). Sehr gut gelingt hierbei eine Reinigung des Produktes **61** über das Umkristallisieren aus EtOH, CH₂Cl₂ und Petrolether.

Abbildung 47: Cbz-Schützung der Aminfunktion am Dopamin Hydrochlorid **52**

Für die systematischen Bindungsstudien an Oberflächen wurden weitere monovalente (**60-61**) und trivalente Catecholderivaten (**53-56**) auf Dopamin- und Adamantanbasis dargestellt. Ebenfalls ist es von Bedeutung einen größeren Pool an interessanten Derivaten herzustellen, um das Forschungsgebiet der Catecholchemie zu ergänzen und zu erweitern.

Für die systematischen Bindungsstudien an Oberflächen wurde ein monovalentes Catecholderivat auf Adamantanbasis **62** hergestellt. Erneut geschah die Kupplung der monovalenten Adamantancarbonsäure mit Alkinfunktion am Brückenkopfatom des Adamantangrundgerüsts **50** über die etablierte Methode mit EDC·HCl und HOBT in DMF (Abbildung 40, Abbildung 42).

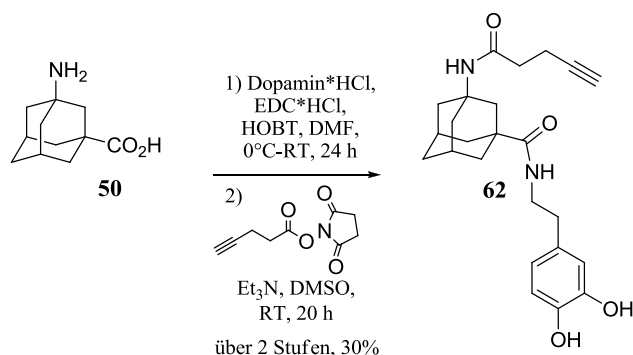


Abbildung 48: Acylierung der Aminoadamantancarbonsäure **50** mit NHS-Pentinsäureester und anschließende Kupplung an Dopamin Hydrochlorid **52**

Durch eine säulenchromatographische Reinigung konnte das Produkt **62** in mäßiger Ausbeute erhalten werden.

3.8 Catecholderivate mit Effektermolekülen

Nach der erfolgreichen Synthese adamantan-basierter Catechole sollten diese nun mit Effektermolekülen zur gezielten Funktionalisierung von Oberflächen verknüpft werden. Als Effektoren sollten hierbei Poly(ethylenglycol) **8** für Antifouling-Anwendungen und Farbstoffe eingesetzt werden.

3.8.1 Poly(ethylenglycol) (PEG)

Eine übliche Methode, um das Anhaften von Biomolekülen oder Mikroorganismen auf Oberflächen zu verhindern, ist das Immobilisieren von Polymeren auf diesen.¹²⁰ Einige Klassen von Polymeren wurden für diesen Zweck untersucht, wie zum Beispiel Polyacrylate, Oligosaccharide, Polymere auf Phospholipidbasis und Poly(ethylenglycol) (PEG).¹²¹ Obwohl die Gründe, warum diese Beschichtungen so gut gegen das Biofouling wirken, chemisch und physikalisch nicht vollständig geklärt sind, wurde von MERRILL und WHITESIDES *et al* folgendes postuliert: Damit eine Oberfläche Antifouling-Eigenschaften besitzt, sollte diese elektrisch neutral und hydrophil sein und darüber hinaus Wasserstoffbrücken-Akzeptoren, jedoch keine Wasserstoffbrücken-Donoren aufweisen. Obwohl viele Polymere diese Anforderungen erfüllen, zeigt Poly(ethylenglycol) (PEG) besonders gute Antifouling-Eigenschaften.^{74,122}

Des Weiteren erwiesen die Arbeiten von MESSERSMITH *et al.*, dass ein Poly(ethylenglycol) (PEG) mit einem Molekulargewicht von etwa 5000 g/mol die besten Resultate gegen Biofouling liefert.^{123,124,125}

3.8.2 Funktionalisierung von Poly(ethylenglycol) (PEG)

Bei diesen Studien ist man von PEG-OH mit $M_w = 5000$ g/mol **63** ausgegangen, doch mussten dieses, vor der eigentlich Verknüpfung mit den Catecholderivaten funktionell verändert werden.

Die erste Synthese, erfolgte in Anlehnung an ein in der Literatur bekanntes Protokoll¹²⁶ und beinhaltet im ersten Schritt die Oxidation von PEG-OH mit KMnO_4 in alkalischem Medium zu PEG- CO_2H **64**, welches in sehr guten Ausbeuten erhalten wird (Abbildung 49). Der nächste Schritt ist die Überführung der Carbonsäure **64** in den NHS-Aktivester **65** mittels *N*-Hydroxysuccinimid und dem Kupplungsreagenz DCC (*N,N*-Dicyclohexylcarbodiimid). Aufgrund der hohen Polarität von Poly(ethylenglycol) ist eine säulenchromatographische Reinigung, oder wässrige Aufarbeitung nicht möglich, sodass der als Nebenprodukt entstandene *N,N*-Dicyclohexylharnstoff (DCU) abfiltriert und der PEG-NHS-Ester **65** ohne weitere Reinigung direkt weiter eingesetzt wurde.

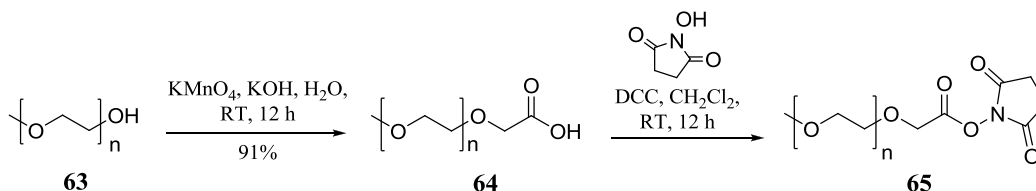


Abbildung 49: Darstellung des PEG-NHS-Esters **65**

Die zweite Synthese, erfolgte in Anlehnung an ein in der Literatur bekanntes Protokoll¹²⁷ und beinhaltet die Umwandlung des PEG-OH **63** in PEG-OMs **66** mittels Methansulfonylchlorid und Et_3N . Das gewünschte Sulfonat wird dabei in sehr guten Ausbeuten erhalten und kann im folgenden Schritt durch Substitution mit NaN_3 in das PEG- N_3 **67** überführt werden, welches mit 76% Ausbeute erhalten wurde.

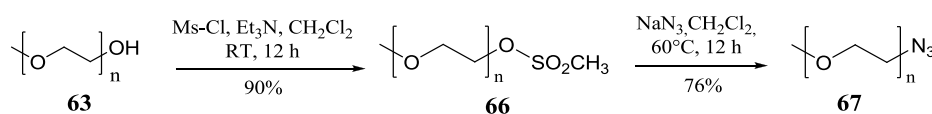


Abbildung 50: Darstellung des PEG-Azids **67**

3.8.3 Verknüpfung der Catecholderivate mit Poly(ethylenglycol) (PEG)

Nachdem Effektormoleküle auf Poly(ethylenglycol)-Basis erfolgreich dargestellt werden konnten, war der nächste Schritt diese mit den synthetisierten monovalenten und trivalenten Catecholderivaten zu verknüpfen.

Die erste Verknüpfung erfolgt über eine NHS-Ester Kupplung des reinen Dopamin Hydrochlorids **52** mit dem PEG-NHS-Ester **65** (Abbildung 51). Die Umsetzung verlief vollständig, leider konnte das Produkt **68** nicht rein erhalten werden.

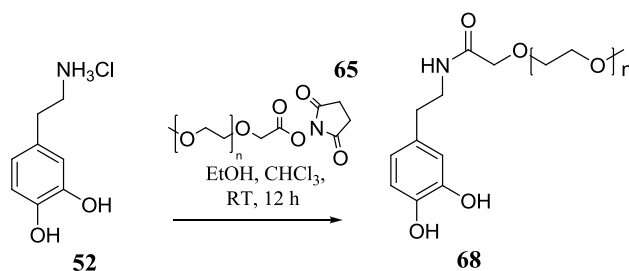


Abbildung 51: PEG-Dopamin **68** via NHS-Ester Kupplung

Eine zweite Möglichkeit zur Verknüpfung des Effektormoleküls Poly(ethylenglycol) PEG und dem Dopaminderivat bzw. Triscatechol war die 1,3-dipolare *Huisgen-Cycloaddition*, auch Klick-Reaktion genannt. Zuvor sollte die Reaktion an einem Testmolekül erprobt und optimiert werden. Die Versuche mit Alkinderivat **69** und Benzylazid in Gegenwart von Kupfer(I) führten zu keiner erfolgreichen Kupplung. Erst der Umsatz mit CuSO₄ und Na-Ascorbat verlief zum gewünschten Produkt.¹¹² Sowohl die Reaktion in DMF bei 100 °C für 30 Minuten in der Mikrowelle (a), als auch die Reaktion in wässrigem *tert*-BuOH bei Raumtemperatur für 24 Stunden (b) erzielten einen quantitativen Umsatz (Abbildung 52).

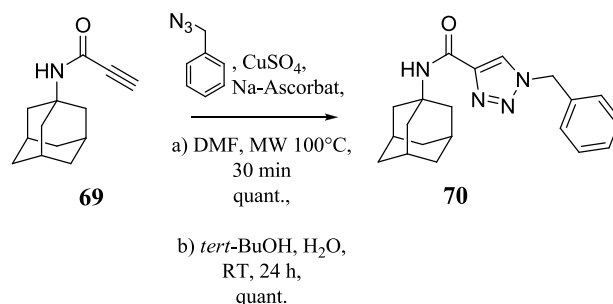
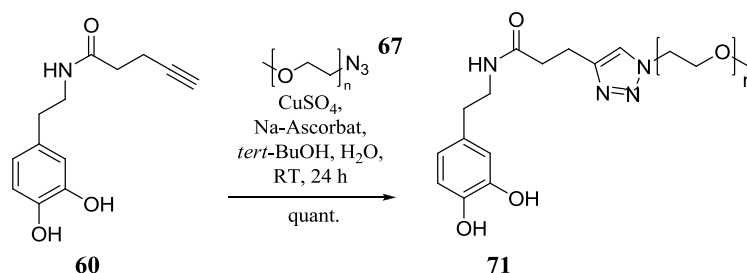


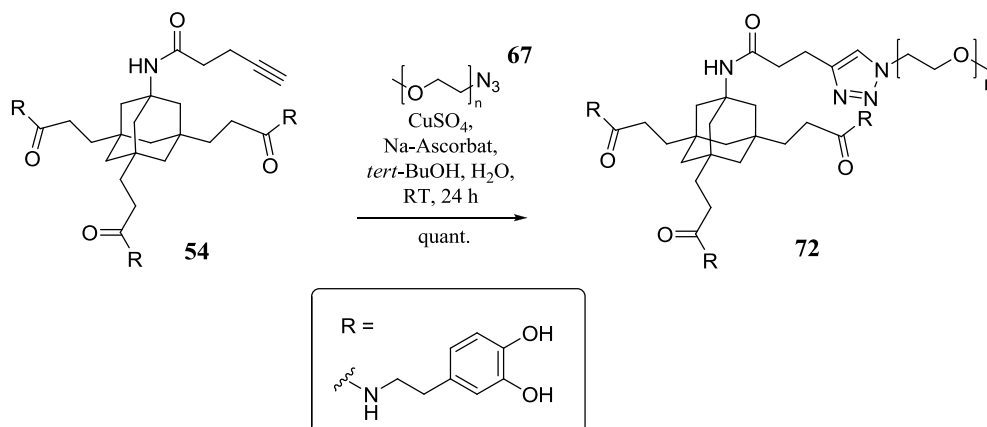
Abbildung 52: Optimierung der Klick-Reaktion

Die optimierte Klick-Reaktion wurde ebenfalls für das Dopaminderivat **60** und Triscatechol **54** angewendet (Abbildung 53, Abbildung 54).

Im Fall des Dopaminderivats konnte das alkinylierte Dopaminderivat **60** mit dem PEG-Azid **67** in *tert*-BuOH und H₂O mit CuSO₄ und Na-Ascorbat quantitativ umgesetzt werden (Abbildung 53). Um das PEG-Derivat **71** für Oberflächenuntersuchungen, vor allem für Zell-Assays, einsetzen zu können, wobei Kupfer-Salze toxisch wirken, konnten die Cu-Salze im ersten Schritt über eine kurze Säulenchromatographie und im zweiten Schritt über eine EDTA-Wäsche vollständig abgetrennt werden.

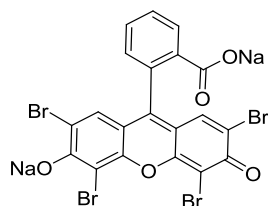
Abbildung 53: Klick-Reaktion am Alkin-Dopamin **60**

Die gleiche optimierte Reaktion wurde auf das Triscatechol **54** angewendet. Das PEG-Derivat **72** konnte mittels Klick-Reaktion quantitativ erhalten werden (Abbildung 54).

Abbildung 54: Klick-Reaktion des Triscatechols **54**

3.8.4 Verknüpfung der Catecholderivate mit dem Farbstoff Eosin Y

Um eine erfolgreiche Beschichtung der Catecholderivate auf TiO₂-Nanopartikeln zu überprüfen, wurde ein visueller Beweis angestrebt. Als geeigneter Farbstoff zeigte sich Eosin Y **7** (Dinatrium). Dieser Farbstoff gehört zur Familie der Xanthene und ist vom Fluorescein abgeleitet. Dieser wird zum Rotfärben von Textilien und Papier, aber auch in der Medizin beispielsweise bei der Untersuchung von Zellen und Blut verwendet (Abbildung 55).

Abbildung 55: Eosin Y **7** (Dinatrium)

Nach der etablierten Kupplungsmethode mit den Reagenzien EDC·HCl und HOBT, konnte Eosin Y erfolgreich an das Cbz-entschütztes Triscatechol **56** gekuppelt werden (Abbildung 56). Nach wässriger Reinigung wurde das Produkt **73** für alle weiteren Versuche sofort auf TiO₂-Nanopartikeln immobilisiert, da es sonst durch Sauerstoff und Sonnenlicht oxidativ zerstört wird.

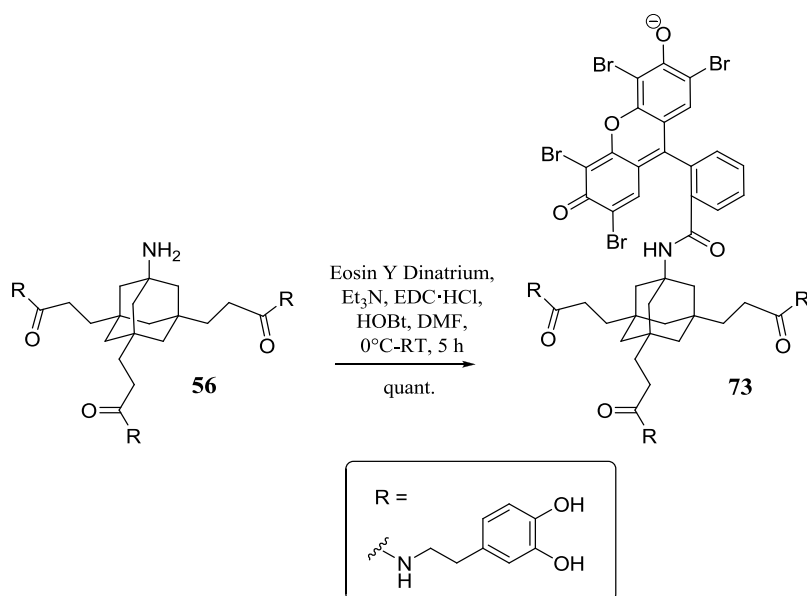


Abbildung 56: Einführung von Eosin Y

Das gleiche Verfahren wurde bei der Kupplung von Eosin Y **7** mit Dopamin Hydrochlorid **52** angewendet. Auch hier konnte problemlos das gekuppelte Produkt **74** erhalten und für alle weiteren Versuche sofort auf TiO₂-Nanopartikel immobilisiert werden (Abbildung 57).

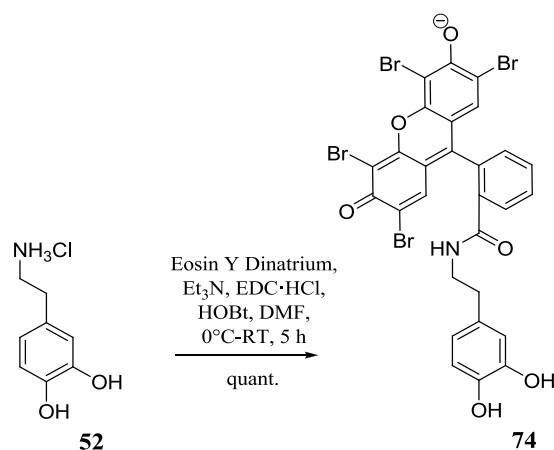


Abbildung 57: Einführung von Eosin Y

Somit wurden erfolgreich monovalente (**71**, **74**) und trivalente Catecholderivate (**72**, **73**) mit unterschiedlichsten Effektormolekülen synthetisiert, die in Kapitel 3.14.4, 3.18 ihre erfolgreiche Anwendung auf TiO₂-Nanopartikeln finden.

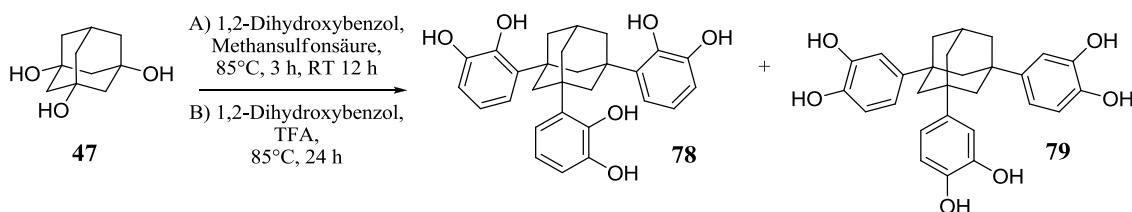
3.9 Catecholderivate als Metallchelatoren

Das nächste Thema, welches in dieser Arbeit behandelt wurde, ist die Darstellung von Catecholderivaten als Metallchelatoren.

In Kapitel 2.3, 2.4 wurde bereits ausführlich auf natürliche Chelatoren eingegangen und es wurde gezeigt, dass Catecholderivate hervorragend Metallkationen, wie zum Beispiel Eisen, komplexieren können.

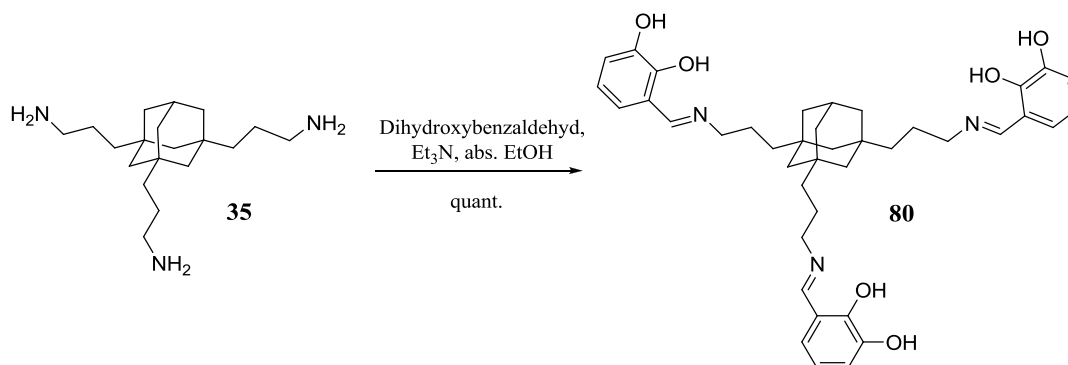
3.9.1 Trivalente Catecholderivate auf Adamantanbasis

Für die Darstellung des Catecholderivats **78** wurde die Kupplungsreaktion an einem Testmolekül optimiert. Dafür wurde Adamtan-1-ol **75** mit 1,2-Dihydroxybenzol **6** und Methansulfonsäure für 3 Stunden auf 85 °C erhitzt und anschließend bei Raumtemperatur 12 Stunden weiter reagieren gelassen. Der Umsatz nach einem abgeänderten Protokoll von LU *et al.* ist dabei vollständig und die Produkt **76** und **77** konnten säulenchromatographisch gereinigt werden (Abbildung 58).¹²⁸

Abbildung 60: Verkürzte trivalente Adamantancatechole **77**, **78**

Bei diesem speziellen Catecholderivat handelt es sich um ein besonders interessantes Derivat zur Oberflächenmodifizierung. Während die Triscatechole **53-56**, **59**, **72**, **73** über vielstufige Synthesen dargestellt werden, erfolgt die Einführung der Catecholgruppe zu **79** in einem Schritt. Des Weiteren handelt es sich bei dem Triscatechol **79**, um eine chemisch äußerst stabile Verbindung, im Vergleich zu den oben gezeigten Catecholderivaten mit mehrfach vorhandenen Amidbindungen, die ggf. enzymatisch labil sein können.

Ein weiteres sehr interessantes Catecholderivat **80**, das als Komplexbildner fungieren kann, entstand bei der Reaktion zwischen Adamantantriamin **35** und 2,3-Dihydroxybenzaldehyd.

Abbildung 61: Darstellung eines Catecholderivats **80** über eine Iminbildung

Die beiden Edukte werden mit der Base Et_3N in wasserfreiem Ethanol zusammengegeben. Nach kurzer Zeit fällt das gewünschte Catecholderivat **80** aus, welches nach Zentrifugieren und Waschen mit Diethylether und wenig kaltem Ethanol quantitativ erhalten werden kann.

Die Darstellung der nächsten beiden Catecholderivate gestaltete sich zu Beginn äußerst schwierig. Keine der angestrebten Kupplungsreaktionen konnte dabei zum gewünschten Produkt führen (Abbildung 62). Entweder war die Umsetzung nicht vollständig oder es konnte gar kein Produkt erhalten werden.

Die bisher beschriebene Kupplungsstrategie mit HOBt und EDC·HCl (Abbildung 42, Abbildung 43) führte in allen drei Fällen zu keinem Umsatz, eine neue Kupplungsstrategie

mit DCC und DMAP (4-(Dimethylamino)-pyridin) führte zu geringen Ausbeute, sodass dieses Verfahren nicht weiter verfolgt wurde.

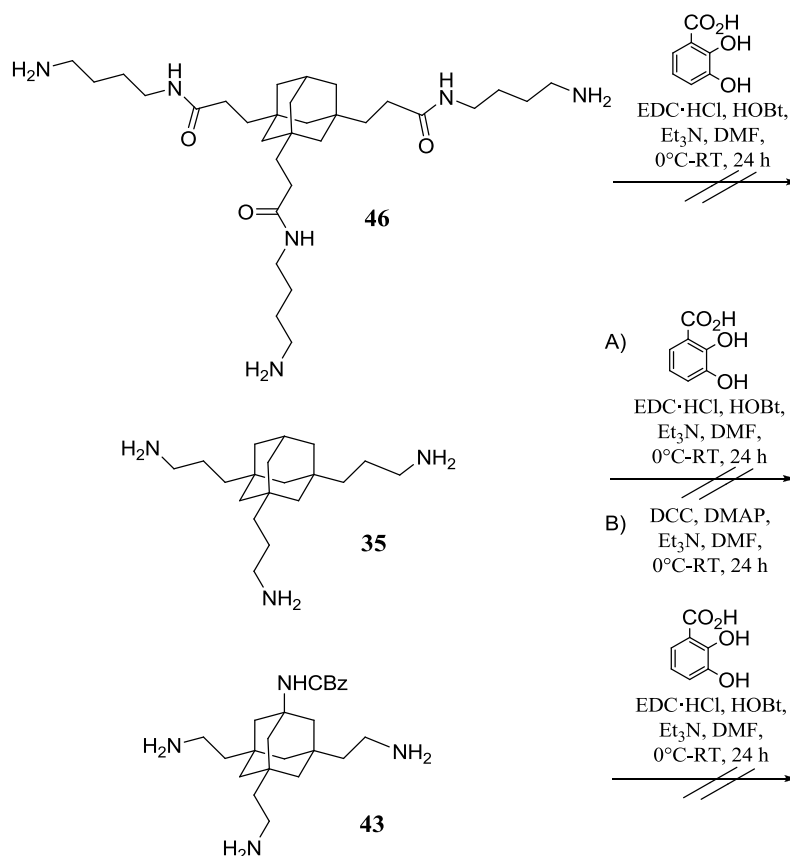


Abbildung 62: Nicht verlaufende Kupplungsreaktion

Daher wurde eine dritte Strategie verfolgt, die letztendlich zum Erfolg führen sollte (Abbildung 63, Abbildung 64). Die methoxygeschützte Dihydroxybenzoesäure **81** wurde mittels SOCl₂ und katalytischen Mengen an absolutem DMF in das Säurechlorid **82** überführt und im nächsten Schritt mit dem jeweiligen Adamantantriamin **35** bzw. **46** umgesetzt.

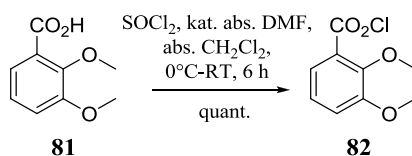


Abbildung 63: Überführung in das Säurechlorid **82**

Der letzte Schritt dieser Reaktionsfolge beinhaltet die Abspaltung der Methoxygruppen, um die entschützten Catecholderivate **84** und **86** für weitere Chelatuntersuchungen zu erhalten.

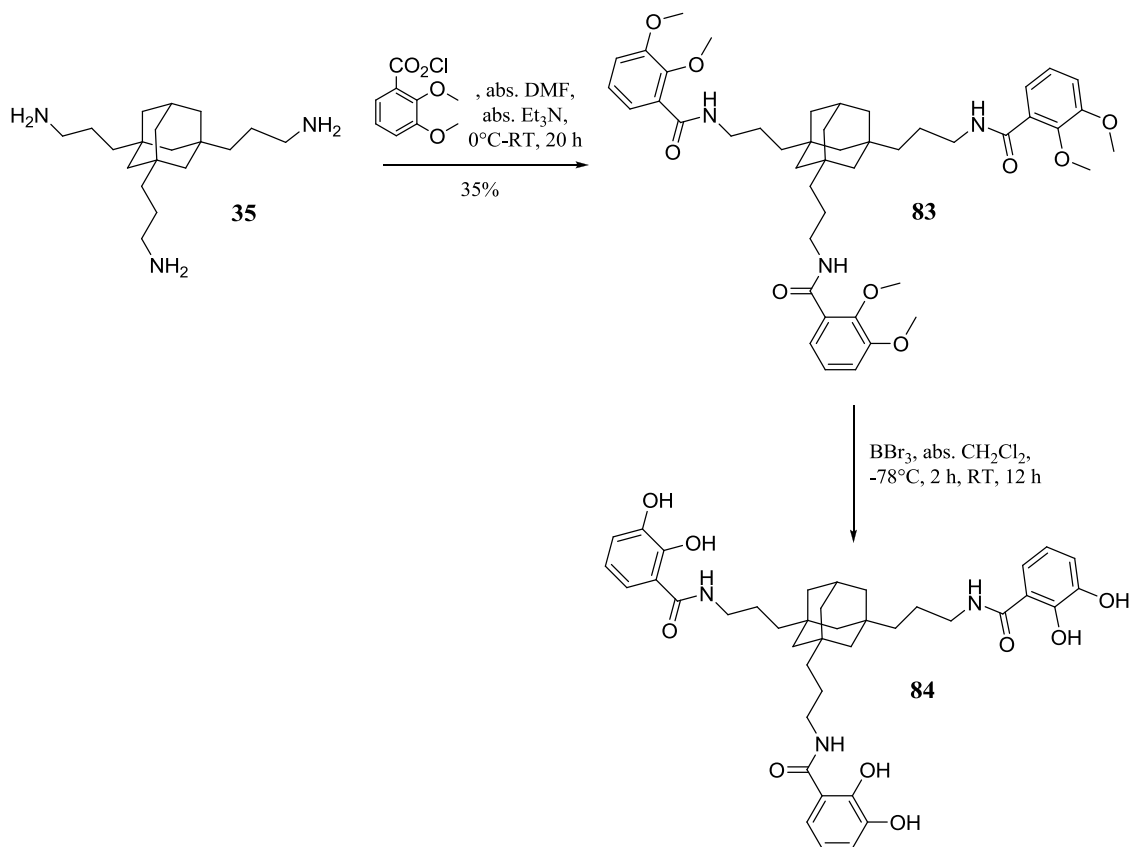
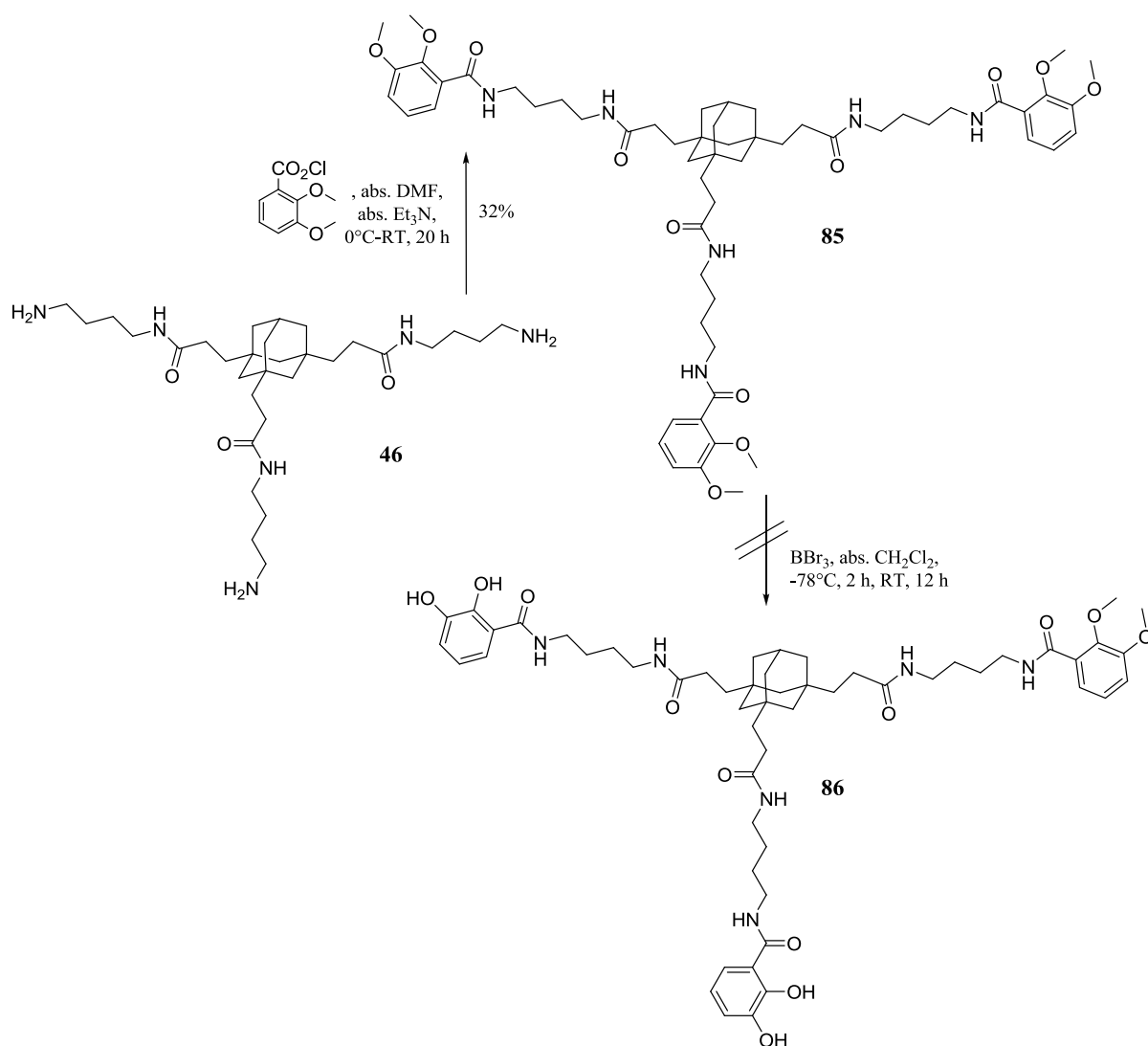


Abbildung 64: Darstellung eines Catecholderivats **83** mit anschließender Entschützung

Dieses konnte durch die Umsetzung mit BBr_3 bei -78 °C erhalten werden (Abbildung 64). Im Fall des geschützten Catecholderivats **85** konnte leider kein Produkt erhalten werden, da es zur Spaltung jeder Amid-Bindungen in **86** kam (Abbildung 65).

Abbildung 65: Darstellung des Catecholderivats **85**

3.10 Bindungs-Assays an Oberflächen

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. BERND SMARSLY, Institut für Physikalische Chemie an der Justus-Liebig-Universität Gießen, war die Möglichkeit gegeben dünne Titanoxid Schichten auf Si-Wafern darzustellen und sie mit den synthetisierten trivalenten und monovalenten Catecholderivaten zu beschichten.

Diese beschichteten Oberflächen konnte sowohl dort, als auch in der Arbeitsgruppe von Prof. JÜRGEN JANEK, Institut für Physikalische Chemie und in der Arbeitsgruppe von Prof. BERND WÖSTMANN, Institut für Zahnheilkunde der Justus-Liebig-Universität Gießen mittels Oberflächenanalytik charakterisiert und vermessen werden.

3.11 Titan-Oberflächen

Titan, seine Legierungen und Titanoxid finden aufgrund ihrer guten Eigenschaften eine breite Anwendung als Material in vielen medizinischen Bereichen, wie zum Beispiel der Implantologie.

Um eine besonders homogene Metalloberfläche zu erhalten, wurde das Flüssigphasen-Beschichtungsverfahren angewendet. Dieses Verfahren hatte sich in der Arbeitsgruppe SMARSLY bewährt (Abbildung 67).

Es beruht auf dem Sol-Gel Verfahren, bei welchem eine Lösung von TiCl_4 , in EtOH und H_2O hergestellt wird: TiCl_4 beginnt unter diesen Bedingungen nach gewisser Zeit zu hydrolysieren und zu kondensieren und bildet vernetzte Strukturen aus (Abbildung 66, Abbildung 67 (A)).

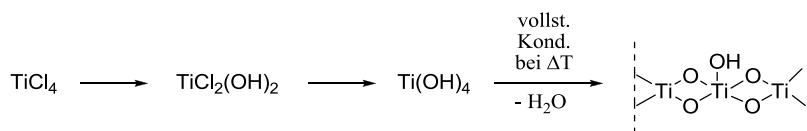


Abbildung 66: Hydrolyse und Kondensation von TiCl_4

Eine Oberfläche geschnittener 2x3 cm großer Silizium Wafer wurde zunächst in die Lösung eingetaucht (**B**) und anschließend langsam herausgezogen (**C**) (Geschwindigkeit 1mm/s, Luftfeuchtigkeit 20%), wobei eine Schicht aus kondensierendem TiOH haften blieb und das Lösungsmittel (EtOH und H_2O) verdampfte (**D**).

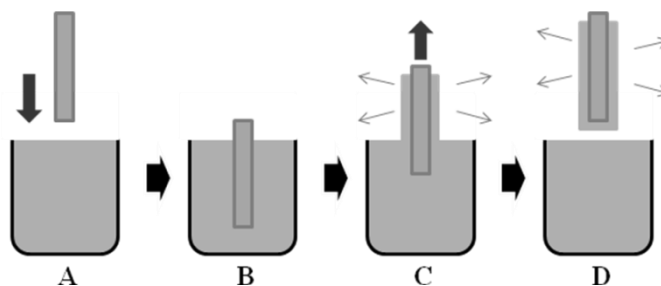


Abbildung 67: Sol-Gel Beschichtung

Die so TiO_2 -beschichteten SiO_2 -Wafer wurden zum Aushärten und Kalzinieren in einem Ofen erhitzt (sechs Stunden bei 80 °C, danach sechs Stunden bei 300 °C, dann Aufheizen auf 550 °C bei 10 °C/min), wobei sich eine kristalline TiO_2 -Schicht (Anatas-Modifikation) ausbildete.

3.12 Oberflächencharakterisierung der hergestellten TiO₂-Schichten

Die TiO₂-beschichteten Si-Wafer wurden vor dem Aufbringen von Catecholderivaten auf ihre Oberflächenbeschaffenheit untersucht.

3.12.1 Profilometrie

Mittels Profilometrie lassen sich Aussagen über die Schichtdicke der TiO₂-Oberflächen treffen, indem eine Nadel die Probenoberfläche topographisch abtastet und die Ergebnisse in ein 2-dimensionales Bild umwandelt (Abbildung 68).

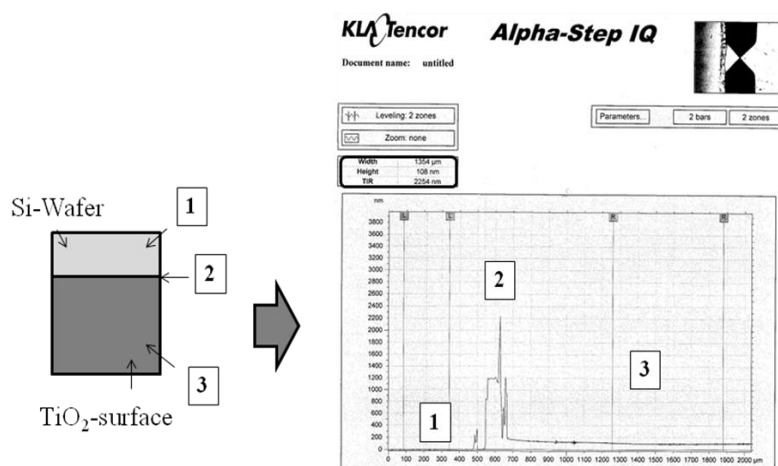


Abbildung 68: Aufnahme einer Profilometer-Untersuchung

Die Aufnahme beginnt auf der oberen Hälfte der Oberfläche, einer reinen unbeschichteten Si-Wafer Fläche (1), die kein Höhenprofil anzeigt. Die Spitze fährt nun langsam von oben nach unten über die gesamte Oberfläche und detektiert zum ersten Mal an Position (2) eine deutliche Erhebung. Dies ist darauf zurück zu führen, dass sich dort beim Sol-Gel-Verfahren mehr hydrolysiertes TiCl₄ abscheidet. Die Nadel fährt weiter über die Oberfläche (3) und detektiert über die gesamte Oberfläche eine Schichtdicke von 100 nm, was mit Literaturwerten sehr gut übereinstimmt. Auch optisch kann man den Unterschied wahrnehmen: Handelt es sich um eine dünne TiO₂-Schicht, d.h. unter 100 nm, ist die Oberfläche hellblau gefärbt. Um 100 nm ist sie kräftig blau. Liegt die Schichtdicke über 120 nm hat die Oberfläche eine dunkel blaue Farbe.

3.12.2 Rasterelektronenmikroskop (REM)

Bei der Rasterelektronenmikroskopie (REM) wird die Oberfläche der Probe von einem Elektronenstrahl gerastert und dabei aus den Wechselwirkungen der Elektronen mit der Oberfläche ein Bild erzeugt. Da Aufnahmen an leitfähigen Oberflächen erfolgen müssen, es sich aber bei dem Wafer um einen Isolator handelt, muss vor der eigentlichen Messung die Oberfläche am Rand mit einer dünnen Platinschicht versehen werden. Man versucht dadurch u.a. auch Aufladungseffekte zu unterbinden. Ist die Energie des Elektronenstrahls zu niedrig, werden nur sehr wenige Sekundärelektronen abgestrahlt und die Probe lädt sich lokal negativ auf, ist der Elektronenstrahl hingegen zu stark, lädt sie sich lokal positiv auf.

Das Ergebnis dieser Untersuchung lässt sich in Abbildung 69 sehr eindrucksvoll darstellen. Die REM Aufnahme **2** zeigt wie im oberen Fall (Abbildung 68) den Übergang zwischen der unbeschichteten Si-Oberfläche und der TiO_2 beschichteten Oberfläche. Die REM-Aufnahme Nummer **3** zeigt die reine kristalline TiO_2 -Schicht. Die schwarzen Punkte sind wahrscheinlich Artefakte, die durch das benetzen mit Platin für die Leitfähigkeit zustande kommen.

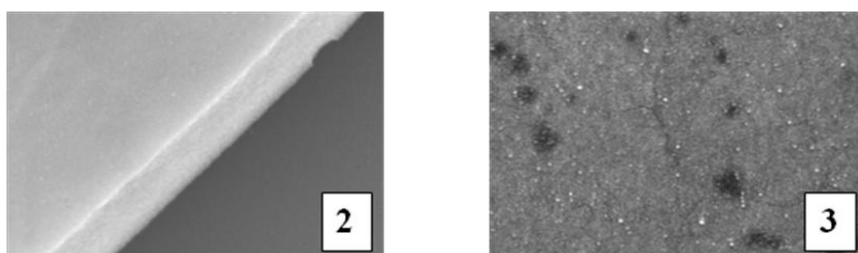


Abbildung 69: REM-Aufnahmen des TiO_2 beschichteten Si-Wafers

3.13 Dip-Coating Verfahren

Nach der erfolgreichen Darstellung und Charakterisierung der TiO_2 -Oberflächen war es nun wichtig die synthetisierten Oberflächenbinder auf Adamantancatecholbasis auf den Oberflächen zu immobilisieren. Dafür wurde ein abgewandeltes, literaturbekanntes Verfahren angewendet, in dem die TiO_2 -Oberflächen zuerst mit dest. MeOH und H_2O gereinigt und in eine Lösung aus Adamantantriscatechol **53-56** gelöst in wenig dest. MeOH (1.25 mg/15 mL) und einem konzentrierten Salzpuffer (0.1 M MOPS/0.6 M NaCl/0.6 M K_2SO_4) 17 Stunden eingetaucht werden.^{129,77}

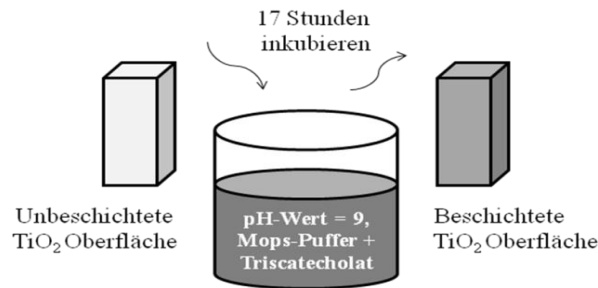


Abbildung 70: Dip-Coating Verfahren

Nach der Inkubation wurde die beschichtete TiO₂-Oberfläche vorsichtig mehrmals mit dest. MeOH und H₂O gewaschen und im Druckluftstrom getrocknet, um mögliche Reste an Pufferlösung oder ungebundenen Catecholderivat zu entfernen.

3.14 Charakterisierung der Oberflächenbeschichtung monovalenter und trivalenter Catecholderivate

Die modifizierten Oberflächen wurden verschiedenen Techniken der Oberflächenanalyse unterzogen, um die Bindung der Triscatechol- und Dopaminderivate zu überprüfen.

3.14.1 Kontaktwinkelmessung

Kontaktwinkelmessungen reagieren äußerst empfindlich auf die Veränderungen der Oberflächenpolarität bei bestimmten Materialien.

Die grundlegende Theorie dieser Technik wird durch die Youngsche-Gleichung beschrieben. Wird ein Flüssigkeitstropfen auf einer Oberfläche platziert, bildet dieser einen definierten Berührungswinkel abhängig von der Polarität der Oberfläche (Abbildung 71).

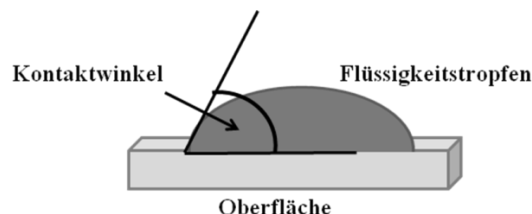


Abbildung 71: Kontaktwinkelmessung

Besitzt sowohl die Oberfläche als auch der Flüssigkeitstropfen eine hohe Polarität, zum Beispiel OH-Gruppen auf dem zu untersuchendem Material, so benetzt dieser die Oberfläche

sehr gut und breitet sich auf dieser aus. Das Ergebnis ist ein kleiner Kontaktwinkel ($\theta > 45^\circ$) und man spricht von einer hydrophilen Oberfläche.

Handelt es sich bei der Oberfläche um eine unpolare, so ist der Kontaktwinkel größer und ab 90° spricht man von einer hydrophoben Oberfläche.

Bei superhydrophoben Oberflächen ($\theta > 160^\circ$) perlt der Tropfen an der Oberfläche vollständig ab, was auch als Lotuseffekt bekannt ist.¹³⁰

In dieser Arbeit wurden die Kontaktwinkelergebnisse mit dem Sessile Drop Fitting (liegenden Tropfen) ermittelt, d.h. der Flüssigkeitstropfen wird auf die Oberfläche aufgetragen, wobei dieser ein konstantes Volumen besitzt, welches während der Messung konstant gehalten wird (statischer Kontaktwinkel). Die Messung besitzt den Vorteil, dass man die Zeitabhängigkeit des Winkels verfolgen kann.

Statisch bedeutet jedoch nicht, dass der Kontaktwinkel konstant bleibt. Durch Wechselwirkungen mit der Oberfläche kann sich der Kontaktwinkel mit der Zeit verändern. Je nach Ursache der zeitlichen Veränderungen kann der Kontaktwinkel dabei kleiner oder größer werden, was zum Beispiel durch Verdampfen der Flüssigkeit, chemischen Reaktionen zwischen Oberfläche und Flüssigkeit, oder Wanderung gelöster Stoffe an die Grenzfläche (oder auch in die umgekehrte Richtung) geschehen kann.¹³¹

Die Grundlage für die Bestimmung des Kontaktwinkels ist das Bild des Tropfens auf der Oberfläche, wobei die Kontur des Tropfens und die Kontaktlinie (Basislinie) mit der Oberfläche ermittelt werden. Für die Berechnung des Winkels wird die Kontur an ein mathematisches Modell angepasst. Für diese Arbeit wurde die Young-Laplace Methode verwendet.

Die Youngsche Gleichung beschreibt das Kräftegleichgewicht eines Tropfens am Dreiphasenkontaktpunkt (fest (s), flüssig (l) und gasförmig (g)):

$$\sigma_{s,g} - \gamma_{l,s} = \sigma_{l,g} \cdot \cos \Theta$$

$\sigma_{s,g}$ Oberflächenspannung der Grenzfläche (Oberfläche/Luft), $\gamma_{l,s}$ Grenzflächenspannung zwischen Flüssigkeit und Oberfläche, $\sigma_{l,g}$ Oberflächenspannung der Flüssigkeit (Flüssigkeit/Luft), $\cos \Theta$ Kontaktwinkel

Die Gleichung nach Young-Laplace beschreibt die Druckerhöhung in einem Flüssigkeitstropfen oder in einer Gasblase in einer Flüssigkeit infolge der durch die Oberflächenspannung hervorgerufenen Oberflächenkrümmung.

$$p = 2\sigma / r \quad (p - \text{Druck}, r - \text{Kugelradius})$$

Nach der erfolgreichen Anpassung der Young-Laplace-Gleichung wird der Kontaktwinkel als Steigung der Konturlinie im Dreiphasenkontaktpunkt (fest (s), flüssig (l) und gasförmig (g)) ermittelt.

Somit wurden auf diese Art und Weise die beschichteten TiO₂-Oberflächen bezüglich ihres Kontaktwinkels (Wasser als Lösungsmittel) untersucht und auf ihre Polarität hin charakterisiert.

Abbildung 72 zeigt die Ergebnisse mit Catecholderivat **53**, wobei es sich bei Bild **A** um die unbeschichtete TiO₂-Oberfläche mit einem Kontaktwinkel von $\Theta = 24^\circ$ handelt. Bild **B** zeigt die Oberfläche nach Behandlung mit reinem MOPS-Puffer mit einem Kontaktwinkel von kleiner $\Theta < 5^\circ$ und Bild **C** zeigt die mit **53** beschichtete TiO₂-Oberfläche mit einem Kontaktwinkel von $\Theta = 39^\circ$.

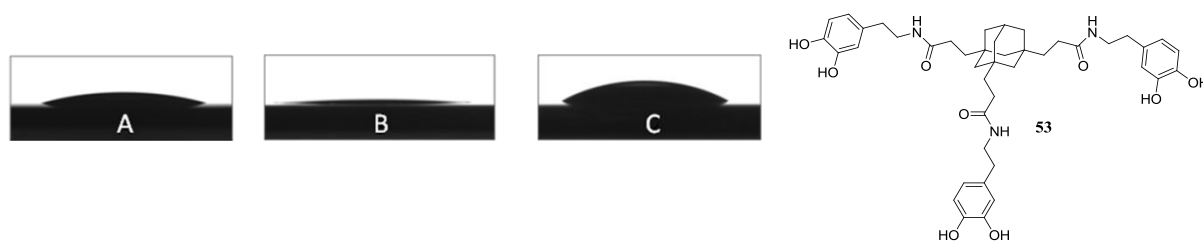


Abbildung 72: Beschichtete und unbeschichtete TiO₂-Oberflächen

In allen Fällen lag der Kontaktwinkel für die unbeschichteten TiO₂-Oberflächen zwischen $\Theta = 25^\circ$ und $\Theta = 30^\circ$. Diese Polarität lässt sich auf die vielen OH-Gruppen auf der TiO₂-Oberfläche zurückführen. Nach der Behandlung mit MOPS-Puffer für 17 Stunden erhöht sich die Oberflächenpolarität sehr stark, was zu einem Abflachen des Winkels um $\Theta = 5^\circ$ führt und durch den alkalischen Puffer zu erklären ist. Nach der Behandlung der TiO₂-Oberflächen mit den Catecholderivaten ist ein Anstieg des Kontaktwinkels zu erkennen, was eine deutliche Verminderung der Polarität bedeutet. Dopamin **4** und das Catecholderivat **56** rufen eine ähnliche Oberflächenpolarität hervor, wobei wie zu erwarten das unsubstituierte

Catecholderivat **53** die höchste Lipophilie besitzt (Tabelle 1).

Tabelle 1: Kontaktwinkel der beschichteten TiO₂-Oberflächen (Toleranz +/- 2.5°),
Durchschnittswerte für 3-4 Messungen

Catecholderivat	Θ (TiO ₂ Kontaktwinkel) [°]	Θ (TiO ₂ + MOPS Kontaktwinkel) [°]	Θ (TiO ₂ + MOPS + Catecholderivat Kontaktwinkel) [°]
Catecholderivat 53	28.0	5.0	38.5
Cbz-Catecholderivat 55	24.7	8.2	22.9
NH₂-Catecholderivat 56	29.1	5.0	11.7
Dopamin 4	30.9	7.6	10.7

Somit konnte ein erster Beweis dafür geliefert werden, dass die Catecholderivate auf der TiO₂-Oberfläche erfolgreich binden.

3.14.2 SIMS-ToF

Flugzeit Sekundärionenmassenspektrometrie (SIMS-ToF) ist eine Technik, welche die molekulare oberste Atomlage der Oberfläche erfasst, indem ein gepulster Primärionenstrahl über die Probe rastert und die daraus resultierenden Fragmente der Sekundärionen massenspektrometrisch detektiert werden (Abbildung 73).

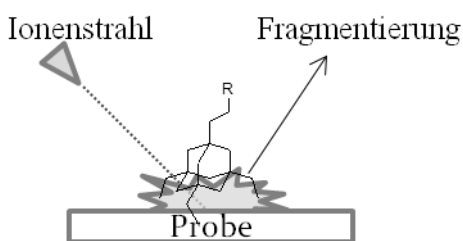


Abbildung 73: Prinzip der SIMS-ToF Messung

Für die Charakterisierung der catecholbeschichteten TiO₂-Oberflächen wurde jede Probe mit einem Bi₃⁺-Primärionenstrahl „abgerastert“ und analysiert: Dies geschah sowohl im negativ als auch im positiv Modus, was bedeutet, dass dabei sowohl positive als auch negativ geladene Sekundärionen gemessen werden können.

Zwecks Eliminierung des Probenhintergrundes wurde in jedem Fall ein Referenzbereich ohne immobilisiertes Molekül gemessen und von dem eigentlichen Spektrum mit gebundenem Catechol abgezogen. Durch den hohen Fragmentierungsgrad der gebundenen Moleküle war

es in vielen Fällen nicht möglich das intakte Molekül zu detektieren. Daher war es notwendig nach Fragmenten mit charakteristischen Massen zu suchen.

Im Fall des immobilisierten Dopamins **4** auf der TiO_2 -Oberfläche war es im positiven Massenspektrum möglich, das intakte Molekül zu detektieren und Sekundärionen mit charakteristischem Massensignal von $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2^+$, $\text{TiC}_8\text{H}_9\text{NO}_2^+$ und $\text{Ti}_2\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2^+$ nachzuweisen.

Im Fall der mit Triscatecholderivaten beschichteten TiO_2 -Oberflächen war es auf Grund der hohen Fragmentierung nicht möglich, das gesamte Molekül zu detektieren. Nichtsdestotrotz war es in allen Fällen ebenfalls möglich charakteristische Fragmente zu erkennen: Ein sehr guter Marker ist dabei das Adamantylkation $\text{C}_{10}\text{H}_{11}^+$, welches bei allen drei Proben **53**, **55** und **56** klar zu erkennen war. Ein kleiner Ausschnitt des Massenspektrums im positiven Modus für Probe **53** ist in Abbildung 74 zu sehen.

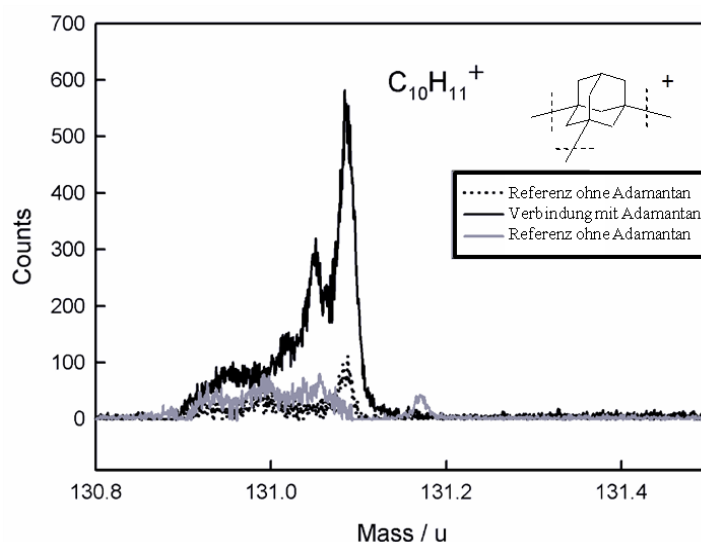


Abbildung 74: Charakteristische Massensignal $m/z = 131$ für das Adamantylkation

Hier sieht man das charakteristische Massensignal bei $m/z = 131$ für das Adamantylkation einer Catechol-beschichteten TiO_2 -Oberfläche im Vergleich zu zwei Oberflächen ohne Beschichtung.

Es konnte somit gezeigt werden, dass die Oberflächenbinder mittels Dip-Coating Verfahren erfolgreich auf der TiO_2 -Oberfläche immobilisiert werden konnten.

3.14.3 Ellipsometrie

Ellipsometrie ist ein Verfahren, bei dem die Änderung des Polarisationszustandes von Licht, bei Reflexion an oder beim Durchtritt durch eine Probe gemessen wird. Dabei wird linear oder zirkular polarisiertes Licht verwendet, das nach Reflexion elliptisch polarisiert ist (Abbildung 75).

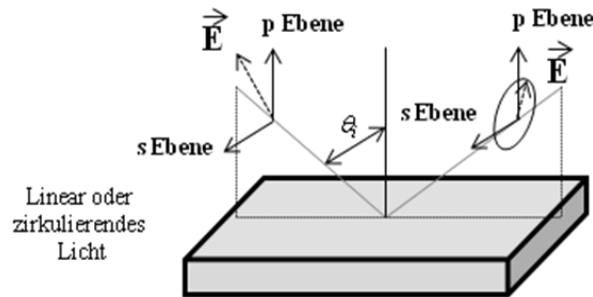


Abbildung 75: Prinzip der Ellipsometrie

Die Orientierung der Ellipse hängt vom Einstrahlwinkel ab, zudem von der Orientierung der Polarisierung des eingestrahnten Lichts und von den Reflexionseigenschaften der Oberfläche.¹³²

Die Änderung des Polarisationszustandes kann durch folgende Gleichung beschrieben werden:

$$\tan(\Psi)e^{i\Delta(\Delta p - \Delta s)} = R_p / R_s$$

R_p = Reflexionskoeffizient parallel zur Einfallsebene, R_s = Reflexionskoeffizient senkrecht zur Einfallsebene,

Δ = Änderung der Phasendifferenz zwischen s- und p-polarisierter Welle

Sie stellen das Verhältnis zwischen einfallender und reflektierender Amplitude des polarisierten Lichts dar. Anhand dieser Gleichung und eines geräteunterstützt, mathematischen Rechenprogramms lassen sich Ψ (Psi) und Δ (Delta) experimentell bestimmen, aus denen Aussagen über die Schichtdicke (T_h in nm) und den Brechungsindex (n) der Oberfläche getroffen werden können.

Dieses Verfahren wurde somit für die beschichtete Oberfläche mit Triscatechol **53** und für die beschichtete Oberfläche mit Dopamin **4** angewendet. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tabelle 2 und Tabelle 3 zusammengefasst.

Es wurden für eine vollständige Oberflächenbeschichtung unterschiedliche Konzentrationen an Catechol gewählt und ihre Veränderung bestimmt. Bei der Verwendung von **53** sieht man bei Konzentrationen von 2, 3 und 4 mg pro 6 mL MOPS-Puffer eine Veränderung der Brechungsindices (unbeschichtete TiO₂-Oberfläche im Vergleich zur Oberfläche nach Behandlung mit MOPS-Puffer und nach Beschichtung mit dem Catecholderivat **53**). Dies ist ein Beweis einer Oberflächenveränderung und somit erfolgreicher Beschichtung. Auch ändert sich die Schichtdicke der unbeschichteten TiO₂-Oberfläche im Vergleich zur beschichteten. Da es sich aber um monomolekulare Catecholschichten auf der Oberfläche handelt, ist die Veränderung der Schichtdicke dennoch signifikant (Tabelle 2).

Tabelle 2: Veränderung des Brechungsindex und der Schichtdicke des Probenträgers TiO₂ in Abhängigkeit von den Konzentrationen von Catecholderivat **53** in MOPS-Puffer

	n / Th [nm]	n / Th [nm]	n / Th [nm]
Unbeschichtetes TiO₂	2.2434/70.6	2.2122/67.3	2.2249/67.7
TiO₂ nach Behandlung mit MOPS	2.1677/71.9	2.1729/67.2	2.2129/66.2
TiO₂ nach Behandlung mit Catecholderivat 53 + MOPS	2.1756/73.8	2.1895/68.2	2.1917/69.2
	2.0 mg von Catecholderivat 53 in 6 mL MOPS	3.0 mg von Catecholderivat 53 in 6 mL MOPS	4.0 mg von Catecholderivat 53 in 6 mL MOPS

Anders sieht es bei der Beschichtung von TiO₂ mit Dopamin **4** aus. Hier wurden ebenfalls unterschiedliche Konzentration von 1, 2.5 und 5 mg pro 6 mL MOPS-Puffer für die Immobilisierung gewählt.

Da, wie in Kapitel 3.7.2 beschrieben, Dopamin in der Lage ist unter basischen Bedingungen und Sauerstoffeinfluss Polydopamin und somit Multilagen zu bilden, hat dies einen signifikanten Einfluss sowohl auf die Schichtdicke als auch auf den Brechungsindex. Betrachtet man die beiden Merkmale, dann verändern diese sich nicht signifikant bei anschließender Behandlung mit MOPS-Puffer.

Tabelle 3: Veränderung des Brechungsindex und der Schichtdicke des Probenträgers TiO₂ in Abhängigkeit von den Konzentrationen von Dopamin **4** in MOPS-Puffer

	n / Th [nm]	n / Th [nm]	n / Th [nm]
Unbeschichtetes TiO₂	2.1646/71.7	2.1686/70.1	2.1611/81.5
TiO₂ nach Behandlung mit MOPS	2.1646/71.7	2.1710/70.2	2.1600/81.4
TiO₂ nach Behandlung mit Dopamin 4 + MOPS	2.2689/76.4	2.4960/73.7	2.9907/159.8
	1.0 mg Dopamin 4 in 6 mL MOPS	2.5 mg Dopamin 4 in 6 mL MOPS	5.0 mg Dopamin 4 in 6 mL MOPS

Sobald die TiO₂-Oberfläche mit Dopamin behandelt wird, steigt sowohl der Brechungsindex, als auch die Schichtdicke stark an. Auch die Erhöhung der Konzentration hat einen bedeutsamen Einfluss und man erkennt sehr deutlich die starke Ausbildung der Polydopamin Multilagen (Tabelle 3).

3.14.4 FTIR-Spektroskopie und visuelle Überprüfung

Ein letzter Beweis, der die erfolgreiche Immobilisierung der Catecholderivate auf Oberflächen zeigen sollte, war das Aufbringen des Farbstoff-gekuppelten Catecholderivats **73** auf reinen TiO₂-Nanopartikeln (P25) und die optische Überprüfung und Charakterisierung mittels FTIR-Spektroskopie.

Dafür wurde Verbindung **73** mittels Inkubation für 16 Stunden in MOPS-Puffer im Ultraschallbad auf TiO₂-Nanopartikel immobilisiert und das Ergebnis mit einer Blindprobe verglichen. Abbildung 76 zeigt die erfolgreiche Immobilisierung des EosinY-markierten-Triscatechols **73** (**1**) indem sich die Nanopartikel typisch intensiv rot färben. Dieselbe Behandlung der TiO₂-Nanopartikel mit reinem Eosin Y **7** führte zu keiner Verfärbung, d.h. eine Immobilisierung, fand nicht statt (**2**). Nummer (**3**) zeigt die unbehandelten TiO₂-Nanopartikel.

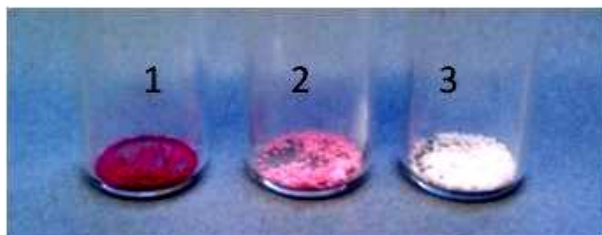


Abbildung 76: 1) Eosin Y Triscatechol **73** immobilisiert auf TiO₂-Nanopartikel, 2) TiO₂-Nanopartikel nach gleicher Behandlung mit reinem Eosin Y **7**, 3) reines TiO₂ (P25)

Des Weiteren wurde die erfolgreiche Immobilisierung mittels FTIR-spektroskopischen Messungen nachgewiesen, indem das Spektrum des reinen TiO₂ (**a**), mit denen der Reinsubstanz **73** (**b**) und **73** immobilisiert auf TiO₂ (**c**) verglichen wurde (Abbildung 77).

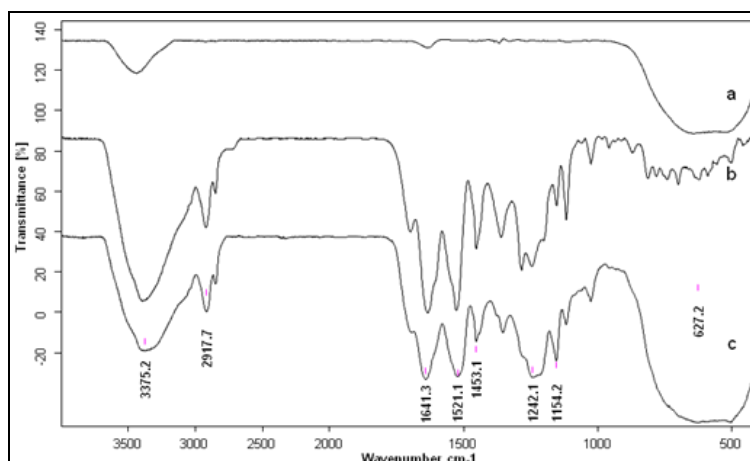


Abbildung 77: FTIR-Spektrum (KBr Pressling) des immobilisierten Triscatechols **73**, a) reines TiO₂, b) reines Triscatechol **73**, c) TiO₂ immobilisiertes Triscatechol

Ein Vergleich des reinen TiO₂ (**a**) mit dem immobilisierten Triscatechol **73** auf TiO₂ (**c**) zeigt eine erfolgreiche Beschichtung. Der Vergleich der Reinsubstanz (**b**) mit dem immobilisierten Triscatechol **73** auf TiO₂ (**c**) zeigt, dass alle charakteristischen Valenzschwingungen der aliphatischen und aromatischen C-H Bindungen, C=O Bindungen und Amid-Bindungen vorhanden sind. Der charakteristische „Finger-Print Bereich“ ist auf Grund der Hintergrundabsorption des TiO₂ nicht sichtbar.

3.15 Untersuchung PEG-beschichteter Oberflächen

Die synthetisierten monovalenten und trivalenten mit Poly(ethylenglycol) PEG funktionalisierten Catecholderivate **68**, **71**, **72** wurden ebenfalls auf die hergestellten TiO₂-Oberflächen mittels eines leicht veränderten Dip-Coating Verfahrens immobilisiert und anschließend einer Oberflächenanalyse unterzogen.

3.15.1 Dip-Coating Verfahren

Nachdem das Dip-Coating Verfahren zur Beschichtung mit den synthetisierten Catecholderivaten **53-56**, **73-74** erfolgreiche Ergebnisse erbracht hatte, sollten nun die synthetisierten PEG-Dopaminderivate **68**, **71** und das PEG-Triscatecholderivate **72** ebenfalls auf einer Metalloberfläche immobilisiert werden. Das zuvor benutzte Dip-Coating Verfahren wurde in Bezug auf pH-Wert und Temperatur angepasst.

Es ist bekannt, dass eine erhöhte Temperatur, ein hoher Salzgehalt und eine definierte Konzentration notwendig sind, um sogenannte „Cloud point“ (trüb und wolkig) Bedingungen zu erhalten, die für eine vollständige Beschichtung von Oberflächen mit PEG-Derivaten notwendig sind. Diese Bedingungen ermöglichen eine gestreckte Anordnung der PEG-Ketten (**C** in Abbildung 78).^{133,84,75}

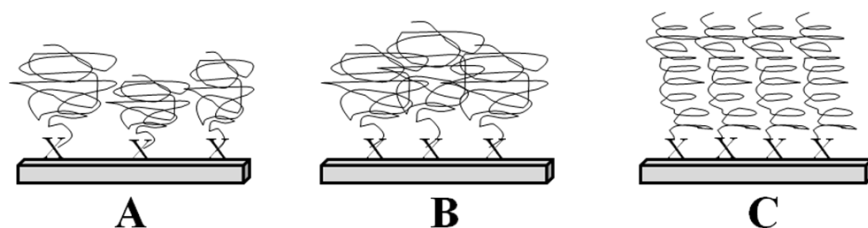


Abbildung 78: Unterschiedliche Anordnung der Poly(ethylenglycol)ketten auf einer Oberfläche

Eine gestreckte und damit möglichst dichte Beschichtung der Oberfläche mit PEG-Molekülen ist für den angestrebten proteinabweisenden Effekt von entscheidender Bedeutung.

Das Verfahren, welches für die PEG-Beschichtungen in dieser Arbeit angewendet wurde, beinhaltet eine Reinigung der TiO₂-Oberflächen mit dest. MeOH und H₂O und eine anschließende Behandlung mit basischem MOPS-Puffer (0.1 M MOPS/0.6 M NaCl/0.6 M K₂SO₄) und den darin gelösten PEG-Derivate **68**, **71** und **72** (5 mg/5 mL). Die einzigen Unterschiede dabei sind der pH-Wert von 7.5 und eine Temperatur von 50 °C bei einer Beschichtungszeit von 17 Stunden. Um eine vollständige Ausrichtung der PEG-Ketten zu

erreichen, wurden die beschichteten und gereinigten TiO₂-Oberflächen anschließend für 2 Stunden in eine 0.1 M HEPES-Lösung mit einem pH-Wert von 7.5 eingetaucht und im Anschluss sofort charakterisiert.

3.15.2 Kontaktwinkelmessungen

Um ebenfalls eine Aussage über die Oberflächenpolarität und damit über den Erfolg der Beschichtung machen zu können, wurden auch in diesem Fall Kontaktwinkelmessungen durchgeführt. Dabei wurde sowohl das PEG-Dopaminderivat **71** als auch PEG- Triscatechol **72** untersucht. Der einzige Unterschied zu den vorherigen Messungen bestand darin, dass die TiO₂-Oberfläche in zwei Hälften unterteilt wurde: Der untere Teil wurde mit einer Lösung aus Catecholderivat und MOPS-Puffer behandelt, die obere Hälfte nicht. Das Reinigen vor und nach Immobilisierung wurde aber für beide Hälften gleichermaßen durchgeführt.

Das Experiment wurde für jede der Verbindungen mehrfach wiederholt und der gewonnene Mittelwert in Abbildung 79 und Abbildung 80 zusammengefasst. Als Referenzwert (Nullpunktmessung) wurde zunächst die unbehandelte TiO₂-Oberfläche analysiert, dann die Oberfläche mit H₂O und MeOH gespült und im Druckluftstrom getrocknet. Danach folgte das Dip-Coating Verfahren und die Behandlung der TiO₂-Oberfläche mit HEPES-Puffer für zwei Stunden.

Es werden jeweils die Ergebnisse für die obere (unbeschichtete) und untere (beschichtete) Oberfläche dargestellt. Das Spülen mit den polaren Lösungsmitteln H₂O und MeOH hat einen starken Einfluss auf die Polarität der Oberfläche, sodass es zu einem rapiden Abfall des Kontaktwinkels kommt: Die Oberfläche ist nun sehr polar. Durch das Beschichten der TiO₂-Oberfläche kommt es zu der Immobilisierung durch das PEG-Dopamin, wodurch sich die Polarität der Oberfläche verändert und der Kontaktwinkel zunimmt. Diese Zunahme wurde bei der unbeschichteten Oberfläche nicht beobachtet. Die abschließende Behandlung der Oberfläche mit HEPES-Puffer hat kaum einen Einfluss, der Kontaktwinkel bleibt für beide Bereiche annähernd konstant (Abbildung 79).

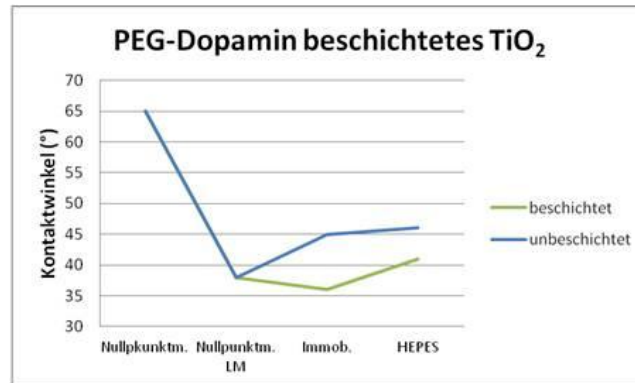


Abbildung 79: Ergebnisse der Kontaktwinkel-Messung für die PEG-Dopaminderivat **71** beschichtete TiO₂-Oberfläche, untere (beschichtete) und obere (unbeschichtete) Hälfte der TiO₂-Oberfläche

Ähnliche Tendenzen lassen sich bei der PEG-Triscatechol **72** beschichtenden TiO₂-Oberfläche erkennen. Auch hier hat das Lösungsmittel einen starken Einfluss auf die Polarität. Ebenfalls nimmt nach Immobilisierung der Kontaktwinkel wieder zu.

Zu beachten ist hier, dass zwei unterschiedliche TiO₂-Oberflächen verwendet wurden. Wurde die TiO₂-Oberfläche wie oben beschrieben (Kapitel 3.13) hergestellt (**1**), wurde ein Kontaktwinkel von etwa 70° gemessen. Wird die Oberfläche bei höherer Temperatur etwas länger kalziniert, befinden sich dadurch mehr OH-Gruppen auf der Oberfläche (**2**), wodurch die Polarität steigt und der Kontaktwinkel dementsprechend geringer ausfällt (Abbildung 80).

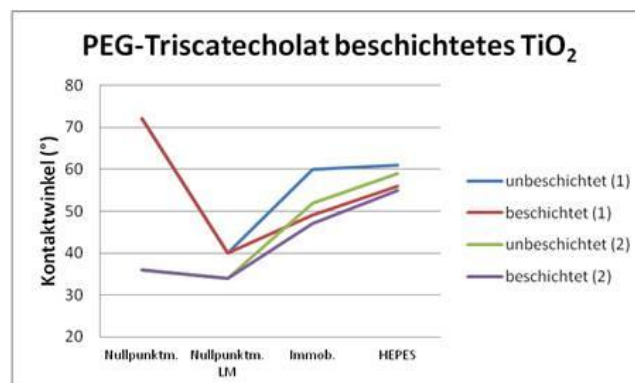


Abbildung 80: Kontaktwinkel Messergebnisse für die PEG-Triscatechol **72** beschichtete TiO₂-Oberfläche, untere (beschichtete) und obere (unbeschichtete) Hälfte der TiO₂-Oberfläche. Die Oberflächen (1) und (2) unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Herstellung und Polarität

Obwohl beide Oberflächen die gleichen Effektormoleküle (PEG) tragen, nehmen die Oberflächenbinder Dopamin **71** und das Triscatechol **72** einen Einfluss auf die Polarität der

Oberfläche (Triscatechole erzeugen eine etwas weniger polare Oberfläche). Dies ist womöglich auf eine unterschiedliche Beladung zurückzuführen.

3.15.3 Ellipsometrie

Das nächste Ziel dieser Arbeit war eine Aussage sowohl über die Schichtdicke, als auch über den Brechungsindex der immobilisierten TiO₂-Oberflächen treffen zu können. Sowohl TEXTOR/GADEMANN als auch MESSERSMITH *et al.* konnten in früheren Tests eine Schichtdicke bei PEG(5000)-Beschichtungen von etwa 20 Å nachweisen.^{75,84,134}

Ähnliche Ergebnisse konnten auch für die hier erwähnten Beschichtungen mit Poly(ethylenglycol) **8** erzielt werden und sind in Tabelle 4-Tabelle 7 zusammengefasst.

Die Grafiken zeigen das Ergebnis der Messung der unbehandelten TiO₂-Oberfläche (Nullpunktmessung) sowie die Ergebnisse der unbeschichteten TiO₂-Oberfläche nach der Behandlung mit den Lösungsmitteln Wasser und MeOH (Nullpunktmessung Lösungsmittel). Als Nächstes folgen die Messwerte für die beschichteten TiO₂-Oberfläche (immobilisiert) und zu guter Letzt die Ergebnisse der TiO₂-Oberfläche nach Behandlung mit HEPES-Puffer (HEPES).

Sowohl bei der Beschichtung mit PEG-Dopamin **71** als auch mit PEG-Triscatechol **72** erkennt man, dass die Schichtdicke nach der Immobilisierung für die beschichtete Hälfte sehr stark zunimmt, (20 und 25 Angström (2-2.5 nm)), während der unbeschichtete Teil unverändert bleibt. Nach der Behandlung mit HEPES-Puffer ist nur eine minimale Zunahme der Schichtdicke zu erkennen (Tabelle 4 und Tabelle 5).

Tabelle 4: Schichtdicke (nm) der TiO₂-Oberflächen, vor und nach der Immobilisierung mit und ohne PEG-Dopamin **71** und der Behandlung mit HEPES

Oberfläche	Schichtdicke Nullpunktmessung [nm]	Schichtdicke nicht immobilisiert mit PEG 71 [nm]	Schichtdicke behandelt mit HEPES [nm]
Träger A (obere Hälfte)	84.2	84.0	84.1

Oberfläche	Schichtdicke Nullpunktmessung [nm]	Schichtdicke immobilisiert mit PEG 71 [nm]	Schichtdicke behandelt mit HEPES [nm]
Träger A (untere Hälfte)	85.7	87.8	87.9

Tabelle 5: Schichtdicke (nm) der TiO₂-Oberflächen, vor und nach der Immobilisierung mit und ohne PEG-Triscatechol **72** und der Behandlung mit HEPES

Oberfläche	Schichtdicke Nullpunktmessung [nm]	Schichtdicke nicht immobilisiert mit PEG 72 [nm]	Schichtdicke behandelt mit HEPES [nm]
Träger B (obere Hälfte)	75.5	75.4	75.4

Oberfläche	Schichtdicke Nullpunktmessung [nm]	Schichtdicke immobilisiert mit PEG 72 [nm]	Schichtdicke behandelt mit HEPES [nm]
Träger B (untere Hälfte)	77.3	79.2	79.3

Die Interpretation der Brechungsindizes sowohl für die Beschichtung mit PEG-Dopamin **71** als auch für das PEG-Triscatechol **72** gestaltet sich als nicht trivial. Man kann hierbei die Tendenz betrachten, die eine Aussage über eine mögliche immobilisierte Monolage an PEG-Molekülen auf der TiO₂-Oberfläche und somit Veränderung der Oberflächen und der Brechungsindizes vor und nach der Immobilisierung, ermöglicht (Tabelle 6 und Tabelle 7).

Tabelle 6: Brechungsindizes der TiO₂-Oberflächen, vor und nach der Immobilisierung mit und ohne PEG-Dopamin **71** und der Behandlung mit HEPES

Oberfläche	Brechungsindex Nullpunktmessung [nm]	Brechungsindex nicht immobilisiert mit PEG 71 [nm]	Brechungsindex behandelt mit HEPES [nm]
Träger A (obere Hälfte)	2.2779	2.2203	2.2246

Oberfläche	Brechungsindex Nullpunktmessung [nm]	Brechungsindex immobilisiert mit PEG 71 [nm]	Brechungsindex behandelt mit HEPES [nm]
Träger A (untere Hälfte)	2.2296	2.1877	2.1853

Tabelle 7: Brechungsindizes der TiO₂-Oberflächen, vor und nach der Immobilisierung mit und ohne PEG-Triscatechol **72** und der Behandlung mit HEPES

Oberfläche	Brechungsindex Nullpunktmessung [nm]	Brechungsindex nicht immobilisiert mit PEG 72 [nm]	Brechungsindex behandelt mit HEPES [nm]
Träger B (obere Hälfte)	2.2014	2.2189	2.2175

Oberfläche	Brechungsindex Nullpunktmessung [nm]	Brechungsindex immobilisiert mit PEG 72 [nm]	Brechungsindex behandelt mit HEPES [nm]
Träger B (untere Hälfte)	2.1976	2.2456	2.2617

Eine deutlichere Aussage ist nur mit der Schichtdicke möglich gewesen, die zeigt, dass die synthetisierten PEG-Catecholderivate **71** und **72** erfolgreich auf der TiO₂-Oberfläche immobilisiert werden konnten und mit bekannten Literaturwerten sehr gut übereinstimmen. Somit ist ein hervorragendes Fundament geschaffen, die so beschichteten Träger auf ihre eigentliche Bestimmung als antimikrobielle Oberflächen hin, in unterschiedlichen Assays, zu untersuchen.

3.16 Antifouling-Eigenschaften der beschichteten TiO₂-Oberflächen

Die mit den PEG-Catecholderivaten **71** und **72** beschichteten TiO₂-Oberflächen wurden im folgenden Kapitel auf ihre Antifouling-Eigenschaften hin untersucht.

Hierfür wurden die wie oben beschrieben präparierten TiO₂-Oberflächen für eine bestimmte Zeit in Blut bei 37 °C inkubiert, dann vorsichtig mit PBS-Puffer gespült und anschließend für eine Visualisierung der anhaftenden Biomoleküle weiter behandelt. Es wurden verschiedene Inkubationszeiten von 30 Minuten bis zu 15 Stunden gewählt. Da aber aus der Literatur bekannt ist, dass ab einer 15 minütigen Behandlung mit Serum eine beinahe vollständige Adhäsion von Biomolekülen, „Steady-State“ genannt, vorliegt, wurde eine Inkubationszeit von 1 Stunde gewählt.¹³⁵

Für die Visualisierung der Biomoleküle auf der TiO₂-Oberfläche musste ein Farbstoff gefunden werden, der selektiv zelluläre Bestandteile anfärbt, sich aber trotzdem außerhalb des

„Quenching Bereichs“ (Effekt der Fluoreszenzlöschung) von TiO_2 (Wellenlänge zwischen 325 und 550 nm) befindet.^{136,35}

Acridin Orange erwies sich in diesem Zusammenhang als hervorragendes Fluorophor zum Anfärben der anhaftenden Blutbestandteile (Abbildung 81).

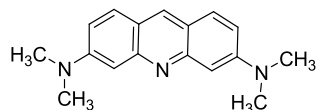


Abbildung 81: Acridin Orange

Es handelt sich dabei um einen Acridin-Farbstoff, der in der Molekularbiologie zum Nachweis der Nukleinsäuren, DNA und RNA benutzt wird und in der Lage ist, diese farblich zu unterscheiden. Die Bindung des Fluorophors erfolgt dabei durch Interkalation des planaren Acridin-Grundkörpers zwischen die Nukleinbasen. Der DNA-Farbstoff-Komplex zeigt ein Absorptionsmaximum bei $\lambda = 502$ nm und ein Emissionsmaximum bei $\lambda = 526$ nm (grün), während der RNA-Farbstoff-Komplex ein Absorptionsmaximum bei $\lambda = 460$ nm und ein Emissionsmaximum bei $\lambda = 650$ nm (rot) aufweist.

Somit wurden die beschichteten TiO_2 -Oberflächen nach Inkubation in Blut für eine Stunde und Waschen mit PBS-Puffer in eine Lösung aus Acridin Orange in Wasser (0.1%) für 10 Minuten eingebracht. Danach wurden diese Oberflächen erneut mit PBS-Puffer vorsichtig gewaschen und sofort unter einem Fluoreszenzmikroskop analysiert (Abbildung 82, Abbildung 83).

Eine sofortige Untersuchung ist wichtig, da TiO_2 ebenfalls photobleichende Eigenschaften hat und der Farbstoff somit schnell irreversibel zerstört wird.¹³⁷

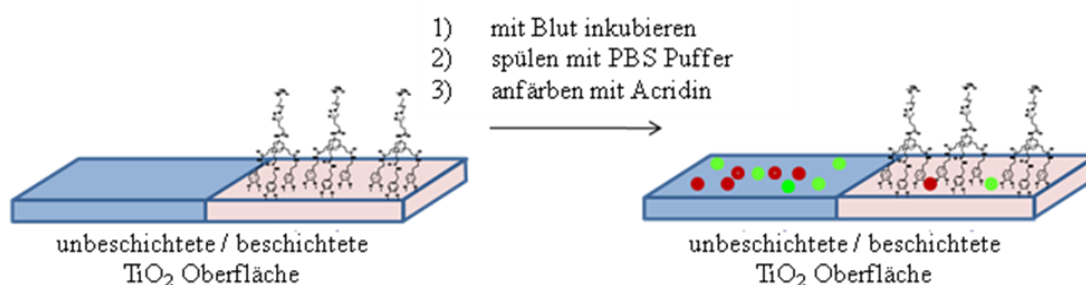


Abbildung 82: Überprüfung der Antibiofouling-Eigenschaften der beschichteten TiO_2 -Oberflächen

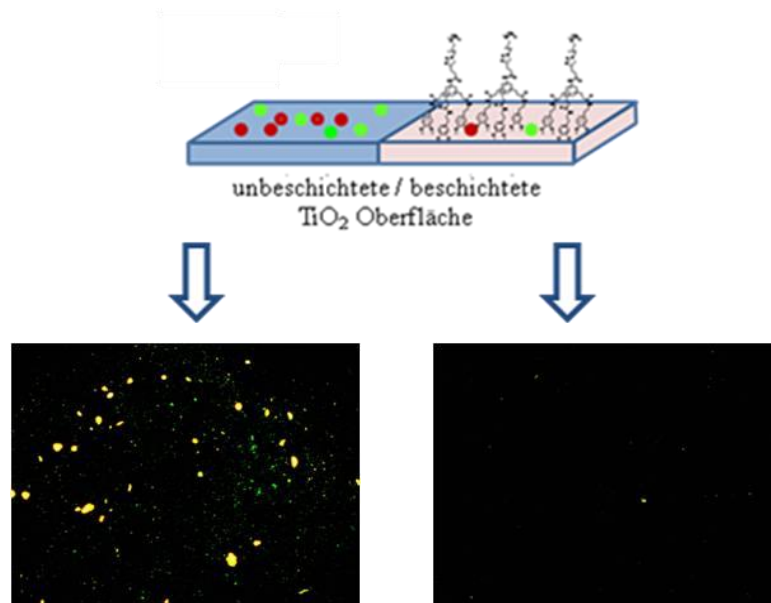


Abbildung 83: Aufnahmen des Fluoreszenzmikroskops (250 μm Auflösung) für die unbeschichtete (links) und beschichtete (rechts) TiO₂-Oberfläche nach Behandlung mit Blut und Färbung mit Acridin Orange

Die unbeschichtete Oberfläche zeigt eine hohe Proteinadsorption, während die beschichtete Oberfläche die Proteine davon abhält einen „Film“ auszubilden.

Somit kann mit den synthetisierten PEG-Catecholderivaten sehr effektiv die Anlagerung von Biomolekülen verhindert werden.

Nicht nur der Nachweis mittels Mikroskopie, sondern auch der analytische Nachweis mittels Ellipsometrie bestätigt die eingangs gemachte Hypothese. Nach der Behandlung der beschichteten TiO₂-Oberflächen mit Blut erkennt man deutlich einen starken Zuwachs der Schichtdicke auf der unbeschichteten Oberflächenseite, gleichbedeutend mit einer starken Adhäsion von Proteinen und zellulären Bestandteilen: Die Schichtdicke nimmt hier um etwa 15 Angström (1.5 nm) zu, wohingegen sich die beschichtete Oberflächenseite kaum verändert hat.

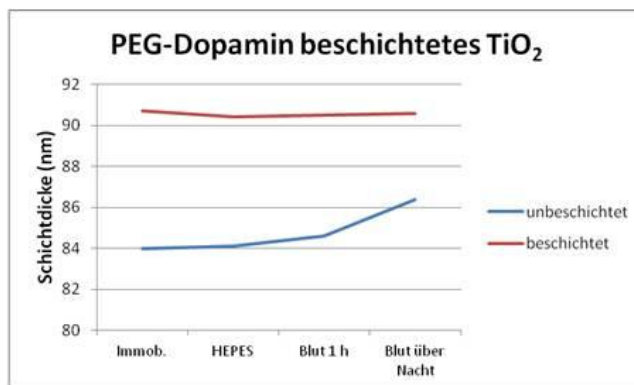


Abbildung 84: Schichtdicke (nm) des immobilisierten PEG-Tricatechol **72** auf TiO₂ Oberflächen nach Behandlung mit Blut

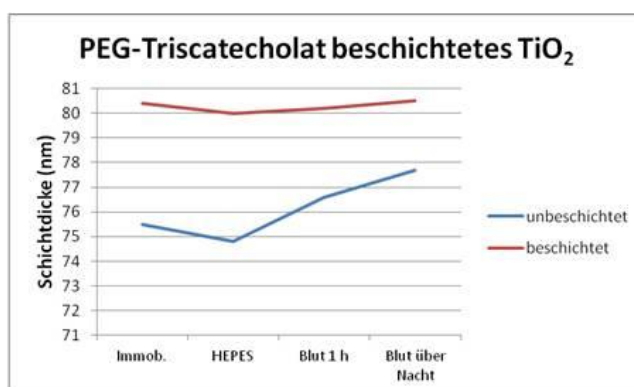


Abbildung 85: Schichtdicke (nm) des immobilisierten PEG-Dopamins **71** auf TiO₂ Oberflächen nach Behandlung mit Blut

Somit konnte auf zwei verschiedene Weisen gezeigt werden, welche sehr guten Antifouling-Eigenschaften die PEG-Catecholderivate **71** und **72** besitzen.

3.17 Stammzellen

Da gezeigt werden konnte, dass die synthetisierten Oberflächenbinder auf Catecholbasis erfolgreich auf TiO₂-Oberflächen immobilisiert werden können und des Weiteren hervorragende Antifouling-Eigenschaften besitzen, war nun die nächste daraus resultierende Frage, ob die Moleküle toxisch gegenüber Zellen sind und wie diese auf die beschichteten Oberflächen reagieren.

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. KATRIN LIPS (Labor für Experimentelle Unfallchirurgie an der Justus-Liebig-Universität Gießen) war die Möglichkeit gegeben Stammzellen aus Knochenmark und Knochenmehl für diese Experimente zu

verwenden, um zu überprüfen, ob die Beschichtungen einen Einfluss auf deren Viabilität hat. Das Knochenmehl und Knochenmark, das zum Züchten der Stammzellen verwendet wurde, stammte von Patienten, bei denen nach chirurgischem Eingriff dieses als Bohrspäne angefallen war.

Aus dieser Knochensubstanz wurde nach einem literaturbekannten Protokoll mittels eines speziellen Nährmediums (F12K Medium: 20% fetales Kälberserum, beinhaltet Proteine und Wachstumsfaktoren; Penicillin und Streptomycin, verhindert die Bildung von Keimen und Pilzen) innerhalb weniger Wochen proliferierte Stammzellen gezüchtet. In der Zellkultur waren außerdem noch Fibroblasten (optisch geringerer Kontrast als Stammzellen), Makrophagen (mehrkernig) und undifferenzierte Mesenchymalzellen, die sich später, da sie aus dem Knochen stammen, zu Osteozyten und Osteoblasten entwickeln können, enthalten.

138,139,140

Für die ersten Tests wurden die beschichteten TiO_2 -Oberflächen mit den proliferierten Zellen überschichtet, mit Nährmedium versehen und 1 Monat lang zum Wachstum gebracht (Abbildung 86, links).

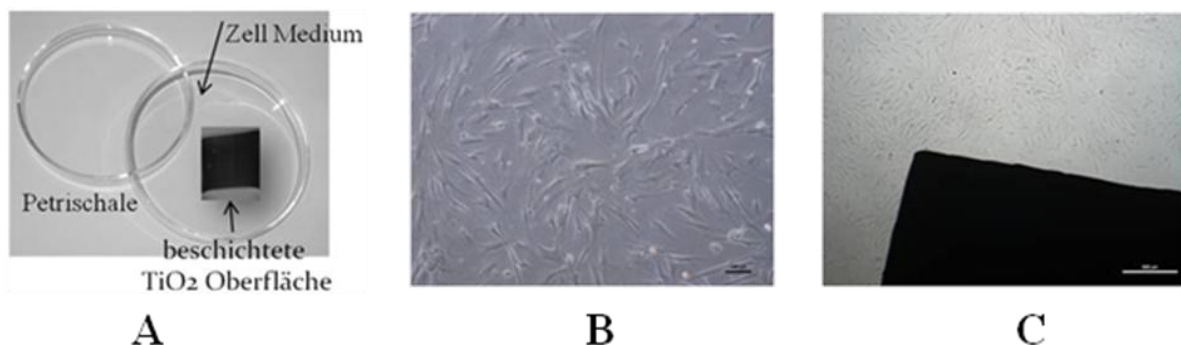


Abbildung 86: (A) Kultivierung von Stammzellen mit beschichteter TiO_2 -Oberfläche; (B) Mikroskopaufnahme (100 μm Auflösung) proliferierter Zellen nach 30 Tagen; (C) Mikroskopaufnahme (500 μm Auflösung) proliferierter Zellen nach 30 Tagen mit beschichteter TiO_2 -Oberfläche

In Abbildung 86 (B) wird deutlich, dass sich die Zellen nach einem Monat sehr gut entwickelt und einen vollständigen Zellrasen ausgebildet haben. Da bei den Aufnahmen ein Durchlichtmikroskop verwendet wurde und ein Anfärben der Zellen auf der Oberfläche nicht möglich war, konnte keine Aussage für die Zellen auf der TiO_2 -Oberfläche getroffen werden, da dieser Bereich vollständig dunkel blieb (Abbildung 86, C). Somit musste nach einer Alternative gesucht werden.

Diese wurde in Gestalt einer beschichteten TiO_2 -Oberfläche auf einem transparenten Träger gefunden: Anstelle des Si-Wafers wurde Glas verwendet. Die Glasoberflächen wurden ebenfalls mit Hilfe des Flüssigphasen-Beschichtungsverfahrens (siehe Kapitel 3.11) mit einer dünnen TiO_2 -Schicht versehen, worauf dann die Catecholderivate immobilisiert wurden. Eine Charakterisierung erfolgte mittels Ellipsometrie und die Oberflächen wurden wie im oberen Fall erneut mit proliferierten Zellen überschichtet und einen Monat zum Wachsen gebracht. Dabei wurden zwei Mal in der Woche Aufnahmen aller Oberflächen gemacht, um einen detaillierten Verlauf der Anpassung und Wachstumsphase der Zellen zeigen zu können.

Die erste Fotoreihe zeigt die Wachstumsentwicklung der Zellen auf der unbeschichteten Oberfläche. Das Teilen, Ablösen und Überführen der Zellen aus ihrem gewohnten Lebensraum (aus der Zellkultur) auf die beschichteten TiO_2 -Oberflächen blieb zu Beginn nicht ohne Folgen. Die Mikroskop-Aufnahme am Tag 1 zeigt dies sehr deutlich. Die Zellen hatten sich kugelig zusammengerollt und hafteten noch nicht auf der TiO_2 -Oberfläche, sondern schwammen am oberen Rand des Nährmediums. Dies kann zum einen an den neuen Bedingungen liegen, zum anderen an der veränderten Oberflächenladung. Zellen wachsen bevorzugt auf Kunststoffoberflächen, geladenen Glasoberflächen meiden sie hingegen (Abbildung 87).

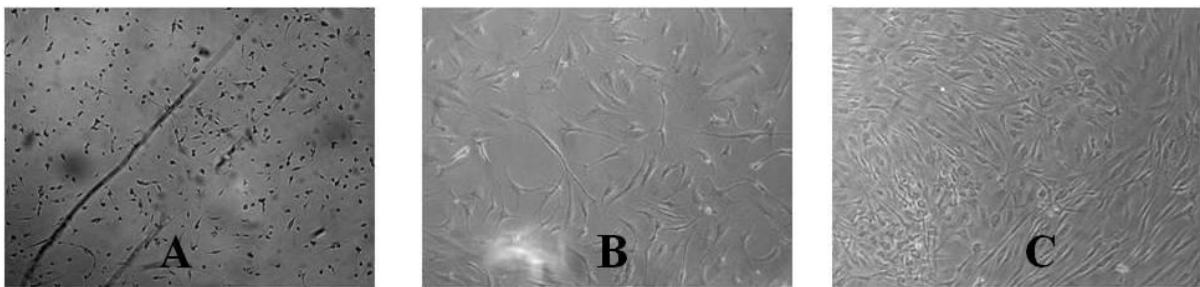


Abbildung 87: Mikroskop-Aufnahmen des Wachstums der Zellen am 1 Tag (A: 500 μm), 4 Tag (B: 100 μm) und 21 Tag (C: 100 μm) auf der unbeschichteten TiO_2 Glas Oberfläche

Nach vier bzw. 21 Tagen hatten sich die Zellen jedoch sehr gut an ihren neuen Lebensraum angepasst. Sie hatten Kollagen gebildet, um sich besser auf der Oberfläche anzulagern, proliferierten und hatten einen vollständigen Zellrasen adhärierend ausgebildet (Abbildung 87, Aufnahme B, C).

Des Weiteren erkennt man die typische spindelförmige Ausbildung der Zellen und die Zellkerne darin, ein Zeichen dafür, dass die Zellen gesund sind.

Der oben erwähnte vollständige Bewuchs war aber nicht auf allen Bereichen der Oberfläche zu erkennen (Abbildung 88). Auf dem beschichteten Teil der TiO₂ Glasoberfläche war zu Beginn ein leichtes Anhaften, aber keine Ausbreitung der Zellen zu erkennen (**A**), der nach kurzer Zeit zu einer Art „Rückzug“ (**B**) bis hin zu einem beinahe vollständigen Entfernen der Zellen auf dem beschichteten Teil führte. Somit konnte eine deutliche Grenze auf allen beschichteten Oberflächen zwischen beschichteten Teil (unten) und unbeschichteten Teil (oben) (**C-E**) erkannt werden. Es ist des Weiteren sehr interessant, dass die Zellen immer mehr Richtung Grenzschicht wanderten, sodass es zu einem regelrechten „überwuchern“ am Übergang kam (**E**). Die restlichen verbliebenen Zellen auf der beschichteten Oberfläche streckten sich bildlich gesehen in alle Richtungen aus, da sie zum Überleben (Stimulation und Stoffwechsel) im Vereinzelt immer den Zell-Zellkontakt zum Nachbarn für ihr Überleben suchten (nur Stammzellen benötigen dies nicht, sie können getrennt voneinander ohne Berührung wachsen) (**B**).

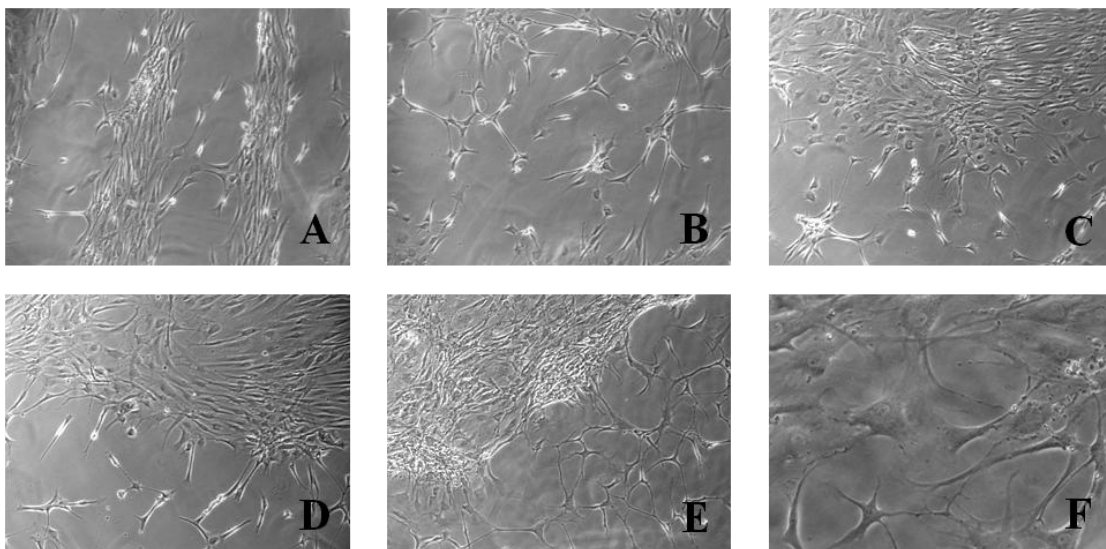


Abbildung 88: Zeitlicher Verlauf der Anhaftung (**A-B**) bis hin zu einem „Rückzug“ (**C-F**) der Zellen von der beschichteten Oberfläche und Wachstum in Richtung der unbeschichteten TiO₂-Oberfläche

Somit konnte in dieser in vitro Studie gezeigt werden, dass die beschichteten TiO₂-Oberflächen auch hier ihre „Antifouling“-Eigenschaften unter Beweis stellen konnten. Ein toxischer Effekt der Beschichtung kann sicher ausgeschlossen werden, da vereinzelte Zellen weiterhin auf der beschichteten Oberfläche überleben und relativ gesund aussehen (**F**). Gerade die nicht vorhandene Toxizität ist bei künftigen Mausmodellen (in vivo Studien) äußerst wichtig und als besonders positiv zu bewerten.

Da es sich, wie im oberen Kapitel erwähnt, um eine Zellkultur aus undifferenzierten Stammzellen handelte, war es eine letzte interessante Untersuchung, die Stammzellen osteogen zu setzen und zu beobachten, wie sich diese auf den TiO₂-Oberflächen entwickeln würden. Osteogen bedeutet, dass sich die undifferenzierten Stammzellen durch Stimulation in osteogene Zellen umwandeln. Osteogene Zellen bilden im ersten Stadium Mineral, was sich später zu Knochensubstanz entwickelt.

Diese Stimulation wurde durchgeführt, nachdem sich ein geschlossener Rasen von Stammzellen ausgebildet hatte. Ob es sich um Stammzellen handelt sieht man in Abbildung 89 (Bild links). Es ist typisch für diese Zellart und genetisch vorgegeben, dass sich die Zellen spindelförmig und in eine Richtung orientiert ausbilden.

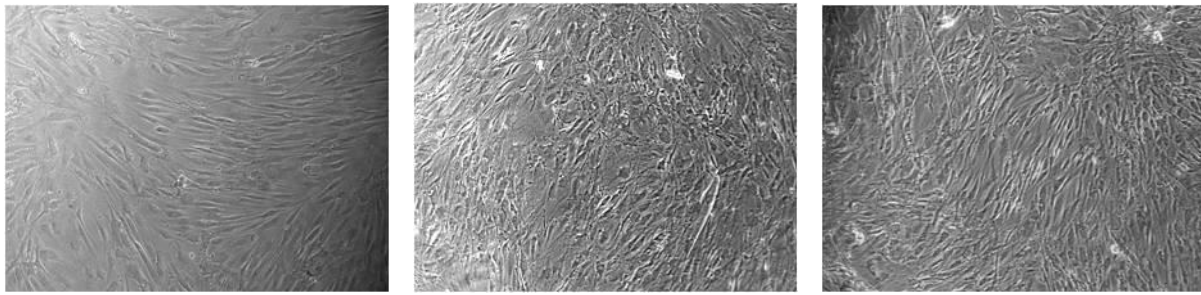


Abbildung 89: Zellentwicklung von Tag 21, Beginn der Differenzierung (link) bis hin zu Tag 33 (rechts)

Nachdem nach 21 Tagen Wachstumsfaktoren zum Kulturmedium hinzugegeben wurden, konnten sich die Stammzellen osteogen differenzieren. Die Entwicklung ist in der Bildabfolge in Abbildung 89 von Tag 21 bis hin zu Tag 33 dargestellt und zeigt die Bildung von Mineral. Dies ist ein weiteres Indiz dafür, dass die Beschichtung keinen negativen Einfluss auf die Entwicklung von Zellen in Kulturen hat. Des Weiteren bedeutet dies eine Begünstigung des Knochenaufbaus an der Grenzfläche des späteren Implantats.

Somit können die synthetisierten Catecholderivate absolut unbedenklich für weitere medizinische vorklinische Studien eingesetzt werden.

3.18 Stabilitätstest

Kommt es im Zuge einer Operation zu Komplikationen und im Anschluss in der Heilungsphase zu Problemen, ist dies oft auf eine Infektion zurückzuführen, die schlimmstenfalls zu einer chronischen Wunde führen kann. Diese sind äußerlich meistens mit endogenen fäkalen, dermalen oder oralen Mikroorganismen besiedelt, die es zu bekämpfen gilt. Ein Anknüpfungspunkt ist dabei u.a. die Veränderung des pH-Werts. Die meisten humanpathogenen Keime können in ihrem Wachstum in einem pH-Wert Bereich < 6.0 und besonders zwischen 4-5 gehemmt werden, da ihr pH-Optimum zwischen 6.2 und 7.8 liegt. In entzündetem Gewebe kann der pH-Wert auf Werte bis zu pH~5 absinken. Dies kommt daher, dass der Körper organische Säuren bildet und durch eine Stase (Stau einer normal bewegten Körperflüssigkeit) CO_2 anreichert. Eine Erhöhung der CO_2 Konzentration kann auch durch einen erhöhten O_2 Bedarf der heilenden Wunde kommen, wobei im Rahmen der Kollagenbildung durch Glycolyse Milchsäure gebildet wird.^{141,142}

Da es ein zukünftiges Ziel ist, die synthetisierten Catecholderivate als „Antifouling Beschichtung“ auf Implantat-Oberflächen zu immobilisieren, muss der Aspekt der pH-Wert Veränderung berücksichtigt und Studien über die Stabilität der Catecholderivate durchgeführt werden (Abbildung 90).

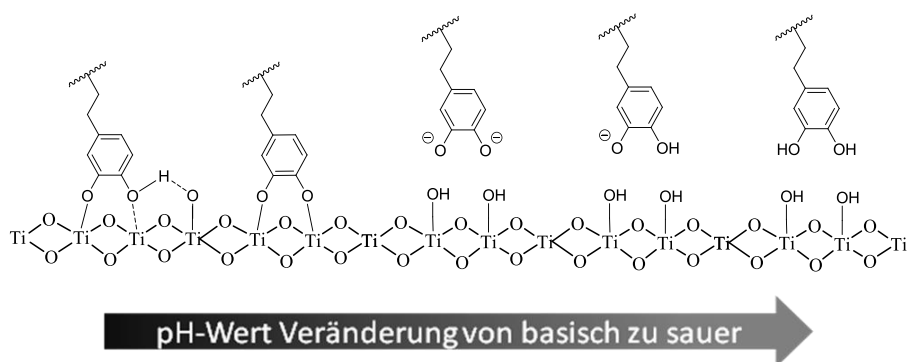


Abbildung 90: Auswirkung der Catecholbindung bei pH-Wert Veränderung

Um die pH-Stabilität zu überprüfen, wurden TiO_2 -Nanopartikel mit Cbz-Dopamin **61** bzw. Triscatechol **55** beschichtet und mit Pufferlösungen unterschiedlicher pH-Werte behandelt. Die Beladung der Nanopartikel wurde jeweils mittels FTIR-Spektroskopie untersucht (Abbildung 91).

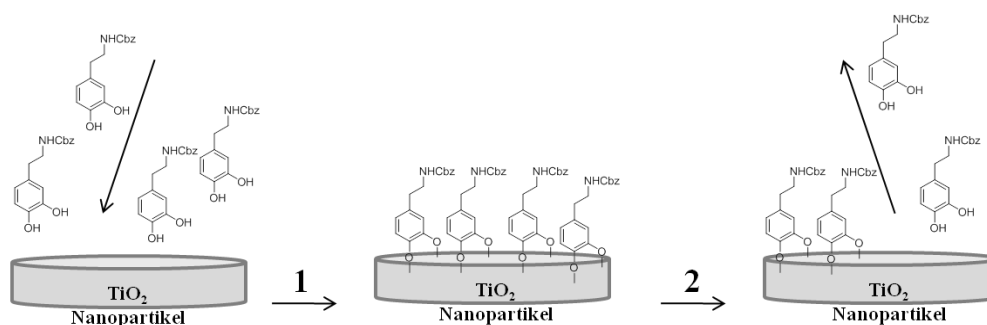


Abbildung 91: Untersuchung zur Desorption der Catecholderivate **61** bei Verminderung des pH-Werts

Zunächst wurde die erfolgreiche Beladung der Oberfläche mit Cbz-Dopamin **61** und des trivalenten Cbz-geschützten Adamantancatechol **55** mittels FTIR- Spektroskopie untersucht (c) und mit dem Spektrum unbeschichteter TiO₂-Nanopartikel (a) und dem des reinen Catechols (b) verglichen. Eine erfolgreiche Beladung konnte somit nachgewiesen werden (Abbildung 92 und Abbildung 93).

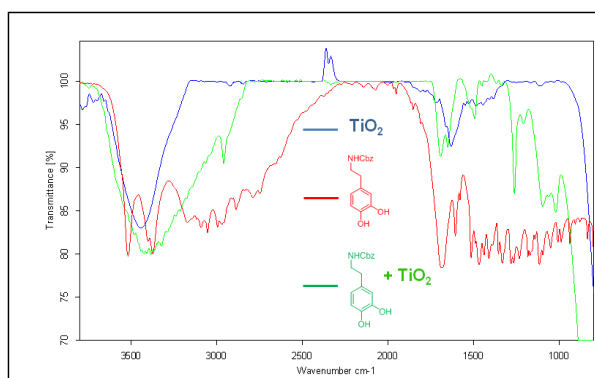


Abbildung 92: FTIR-Spektrum (KBr Pressling) des immobilisierten Cbz-Dopamin **61**:

- a) blaues Spektrum: reines TiO₂, b) rotes Spektrum: reines Cbz-Dopamin **61**,
c) grünes Spektrum: TiO₂ immobilisiertes Cbz-Dopamin **61**

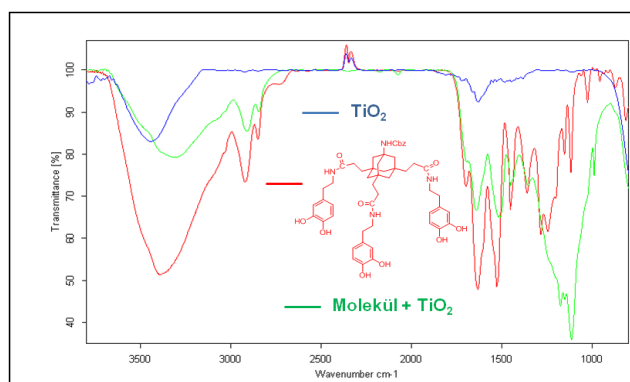


Abbildung 93: FTIR-Spektrum (KBr Pressling) des immobilisierten Triscatechols **55**:

- a) blaues Spektrum: reines TiO₂, b) rotes Spektrum: reines Triscatechol **55**,
c) grünes Spektrum: TiO₂ immobilisiertes Triscatechol **55**

Für die eigentlichen Stabilitätstests wurden die beschichteten Nanopartikel in der Dunkelheit für eine bestimmte Zeit in unterschiedlichen Puffersystemen mit abnehmendem pH-Wert inkubiert. Danach erfolgte eine sorgfältige Reinigung mit H₂O und dest. MeOH, um überschüssige Puffersalze und desorbierte Catecholderivate zu entfernen. Mittels FTIR-Messungen wurden die Nanopartikel erneut untersucht. Folgende Puffersysteme wurden dafür verwendet (Tabelle 8):

Tabelle 8: Verwendete Puffersysteme mit gegebenen pH-Werten für die Stabilitätstests

Puffersystem	pH-Wert
Phosphat-Puffer	7.75 – 5.84
Essigsäure / Na-Acetat-Puffer	5.50 – 3.50
Glycin / HCl-Puffer	2.92 – 1.76

Für die Auswertung der gemessenen Spektren wurde ein Integrationsprogramm verwendet, welches in der FTIR-Auswertungssoftware OPUS enthalten ist. Dabei werden die gemessenen Spektren auf 1 mg kalibriert und mit der OPUS internen B-Methode ausgewertet. Eine Grundlinie wird als Tangente entlang der beiden niedrigsten Punkte der zu untersuchenden Absorptionsbande angelegt und das Computerprogramm integriert anschließend die darüber liegende Fläche (Abbildung 94).

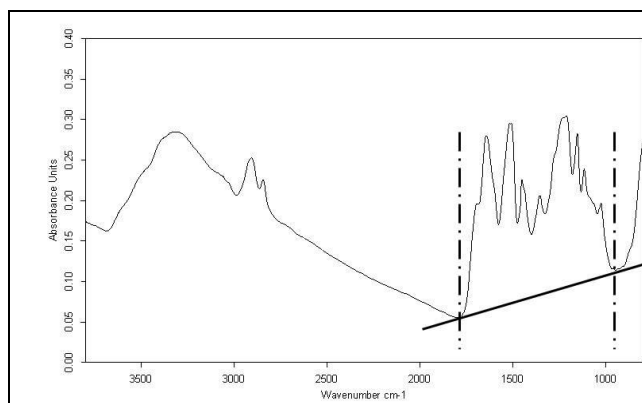


Abbildung 94: Darstellung der OPUS internen B-Methode am Beispiel des FTIR Absorptionsspektrums (KBr Pressling) des trivalenten Adamantancatechols **55** im Wellenzahlbereich 1750 – 950 cm⁻¹

Für Cbz-Dopamin **61** wurde aufgrund der wenigen vorhandenen charakteristischen FTIR-Banden die charakteristische C=O Valenzschwingung zu Hilfe gezogen und die Fläche bei $\nu = 1700 \text{ cm}^{-1}$ ermittelt.

Die charakteristischen C-H Valenzschwingung für Alkane bzw. Aromaten bei $\nu = 3500 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ konnten nicht verwendet werden, da diese von den OH-Schwingungen des TiO_2 bzw. Kristallwassers überlagert werden und das berechnete Flächenergebnis somit verfälscht wird.

Ähnlich wurde für das trivalente Cbz-geschützte Triscatechol **55** verfahren. Hier wurden die charakteristischen FTIR-Valenzschwingungsbanden für C=O, Amid und C-H Bindungen bei $\nu = 1750 - 950 \text{ cm}^{-1}$ für die Auswertung verwendet

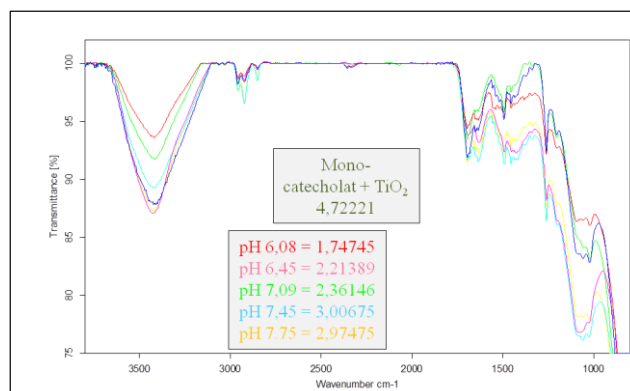


Abbildung 95: Ergebnisse der Phosphat-Puffer Inkubation (30 Minuten) für Cbz-Dopamin **61** immobilisiert auf TiO_2 -Nanopartikeln

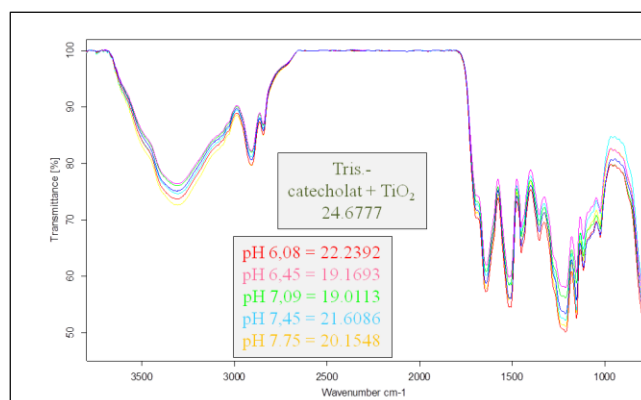


Abbildung 96: Ergebnisse der Phosphat-Puffer Inkubation (30 Minuten) für Triscatechol **55** immobilisiert auf TiO_2 -Nanopartikeln

Tabelle 9: Ergebnisse für das Dopaminderivat **61** und Triscatechol **55** bei Verwendung des Phosphat-Puffers und einer Inkubation von 30 Minuten

Probe	pH-Wert	Fläche für Cbz-Dopamin 61 (cm ²) ^(a)	Fläche für Triscatechol 55 (cm ²) ^(a)
1	7.75	3.0	20.2
2	7.45	3.0	21.6
3	7.09	2.3	19.0
4	6.45	2.2	19.2
5	6.08	1.7	22.2
6	5.84	1.6	21.3

(a) Die Daten wurden nach der OPUS internen B-Methode ermittelt

Auch wenn eine Fehlergrenze von 10% angenommen wird, sieht man sehr deutlich, dass das Triscatechol **55** beinahe unverändert auf der Oberfläche haften bleibt, während im Vergleich dazu Cbz-Dopamin **61** mit bis zu 60% von der Oberfläche desorbiert (Abbildung 95, Abbildung 96 und Tabelle 9).

Triscatechole wie **55** zeigen also eine signifikant stärkere Bindung an TiO₂ und ermöglichen auch bei leicht saurem pH-Wert eine beständige Beschichtung von Metalloberflächen.

Weitere Versuche wurden unternommen, um herauszufinden, ab welchem pH-Wert sowohl bei den Dopaminderivaten als auch bei den trivalenten Catecholderivaten eine vollständige Desorption stattfindet und welche Zeit dafür notwendig ist.

Es wurde sowohl der Essigsäure / Na-Acetat-Puffer bei pH-Werten von 5.15 bis 3.62 als auch der Glycin / HCl-Puffer bei pH-Werten von 2.92 bis 1.76 verwendet. Ebenfalls wurde die Reaktionszeit von 30 Minuten auf 2, 4, 24 Stunden und 4 Tage erhöht. Es konnten jedoch keine verwertbaren Ergebnisse erzielt werden:

Es war an Hand der FTIR-Spektren zu erkennen, dass es teilweise zu einer Adsorption der Pufferinhaltsstoffe an den TiO₂-Nanopartikeln kam, sodass die Flächen der IR-Banden besonders im Bereich der charakteristischen C=O Valenzschwingung zunahmen und man somit keine Aussage hinsichtlich der Desorption der Catecholderivate machen konnte.

3.19 Bindungseigenschaften der Catecholderivate auf ZnO-Nanopartikeln

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. SILVIA GROSS am Dipartimento Di Scienze Chimiche – Univerisita` Degli Studi Di Padova wurden die synthetisierten Catecholderivate als Oberflächenbinder auf ZnO-Nanopartikel aufgebracht und hinsichtlich ihrer Bindungseigenschaften untersucht. Es wurden folgende Analysemethoden dafür verwendet: Röntgen –Photoelektronen Spektroskopie (XPS), thermogravimetrische Analyse (TGA) und die dynamische Differenzkalorimetrie (DSC).

Für die Funktionalisierung der ZnO-Nanopartikel wurden das Cbz-Dopamin **61**, das Alkynyl-Dopamin **60**, das Cbz-geschützte Triscatechol **55** und das Alkin funktionalisierte Triscatechol **54** verwendet und nach dem in Kapitel 3.15 beschriebenen, etablierten Verfahren für Nanopartikel auf ZnO aufgebracht.

Untersuchungen von ZnO sind dabei von großem Interesse, da es eines der wichtigsten und vielseitigsten Funktionsmaterialien ist. Es besitzt hervorragende optische, elektronische und magnetische Eigenschaften.¹⁴³ Außerdem zeichnet es sich durch hohe Stabilität und Biokompatibilität aus. Mögliche Anwendungsgebiete reichen von der Katalyse^{144,145,146} über Optik¹⁴⁷ bis hin zu medizinischen Applikationen.^{148,149} Außerdem ist die Synthese von ZnO einfach, kostengünstig und unter milden Bedingungen durchzuführen.¹⁵⁰

Auf Grund dieser genannten Charakteristika war es von Interesse die Bindungen der Catecholderivate **54**, **55**, **60** und **61** auf ZnO-Nanopartikeln zu untersuchen, da dieser Bereich nur wenig erforscht ist.^{151,152,153,154}

3.20 Oberflächencharakterisierung

3.20.1 TGA / DSC-Messungen

Um physikalische Vorgänge und chemische Reaktionen die mit Massenänderung verbunden sind zu untersuchen, ist die Thermogravimetrische Analyse (TGA) ein hervorragendes Verfahren. Die Veränderung der Masse einer Probe wird unter kontrollierten Bedingungen als Funktion der Temperatur und der Zeit aufgenommen.

Dieses Messverfahren wird zur Untersuchung des Zersetzungsverhaltens oder zur Bestimmung der thermischen Stabilität von Materialien bis zu 1000 °C angewendet.

Ein weiteres Verfahren, welches parallel dazu angewendet wird, ist die Dynamische Differenzkalorimetrie (DDK) (Differential Scanning Calorimetry DSC). Dabei handelt es sich um ein Verfahren, bei der die von einer Probe abgegebene bzw. aufgenommene Wärmemenge bei isothermer Arbeitsweise, Aufheizung oder Abkühlung vermessen wird.

Diese beiden Verfahren wurden für die beschichteten ZnO-Nanopartikel angewendet, um Aussagen über das thermische Verhalten und eine Quantifizierung der an der ZnO-Oberfläche gebundenen Catecholderivate **54**, **55**, **60**, **61** treffen zu können (Abbildung 97, Abbildung 98, Abbildung 99).

TGA- und DSC-Kurven des auf ZnO immobilisierten Alkynyl-Dopamin **60** sind in Abbildung 97 dargestellt.

Die TGA-Kurve zeigt, dass das immobilisierte Alkynyl-Dopamin **60** bis etwa 300 °C thermisch stabil ist und sich erst bei höheren Temperaturen zersetzt (Abfall der Kurve ab 300 °C). Ab 440 °C ist nur noch reines ZnO vorhanden, welches im Messbereich bis 800 °C thermisch stabil ist (Kurve bleibt konstant). Der Massenanteil des übrig gebliebenen ZnO ist 79%, somit beträgt die Beladung an Alkynyl-Dopamin **60** 18%.

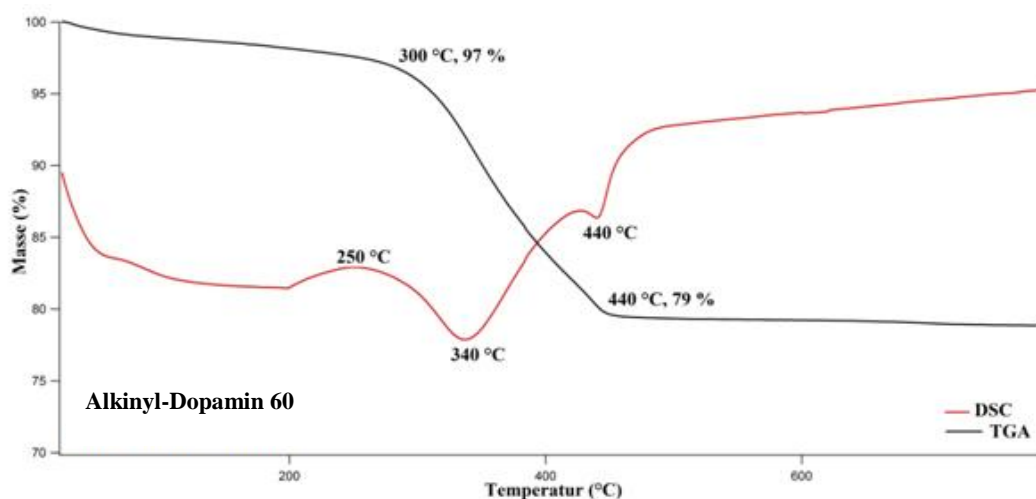


Abbildung 97: TGA und DSC-Ergebnisse des ZnO-Nanopartikel immobilisierten Alkynyl-Dopamins **60**

Betrachtet man die DSC-Kurve so wird deutlich, dass bei 250 °C ein schwach endothermer Prozess stattfindet, welcher auf eine Desorption eines Adsorbaten von der Oberfläche zurückzuführen ist (3% Masseverlust bis 300 °C, leichter Anstieg der Kurve). Dabei könnte

es sich um adsorbiertes Acetylacetonat handeln, welches bei der Herstellung der Nanopartikel verwendet wird.

Bei 340 °C zeigt die DSC-Kurve einen exothermen Prozess (starker Anstieg der Kurve), was auf die Zersetzung des Alkynyl-Dopamins **60** hindeutet. Ein schwacher exothermer Prozess findet bei 440 °C statt, dessen Ursprung ebenso auf die Zersetzung des Alkynyl-Dopamins **60** zurückgeführt werden kann. Nähere Untersuchungen der Prozesse wurden jedoch nicht unternommen.

TGA- und DSC-Kurven des auf ZnO immobilisierten Cbz-Dopamins **61** sind in Abbildung 98 dargestellt.

Die TGA-Kurve zeigt, dass das immobilisierte Cbz-Dopamin **61** bis etwa 300 °C thermisch stabil ist (Spaltung der Catechol-Bindung) und sich bei höheren Temperaturen zersetzt (Abfall der Kurve ab 260 °C, Spaltung der Carbamat-Bindung). Ab 460 °C ist nur noch reines ZnO vorhanden, welches im Messbereich bis 800 °C thermisch stabil ist (Kurve bleibt konstant).

Sehr eindeutig erkennt man hier, dass die Amid/Carbamat-Bindung deutlich stabiler ist, als die Alkynyl-Funktionalität am Dopamin-Molekül.

Der Massenanteil des restlichen ZnO ist 62%, somit beträgt die Beladung 38%, 35% an Cbz-Dopamin **61** und 3% Verunreinigung.

Die experimentellen Befunde der Beladung von Cbz-Dopamin **61** auf ZnO-Nanopartikeln stimmen sehr gut mit den theoretisch berechneten Ergebnissen überein. Von 260 °C (96%) bis 300 °C (82%) findet die erste Spaltung im Molekül statt, dabei handelt es sich um die Carbamat-Schutzgruppe. Es handelt sich hierbei um einen Massenverlust von 14% was auf die gesamte Masse der Beladung einen Anteil von etwa 40% ausmacht. Der theoretisch berechnete Wert im Molekül liegt dabei bei etwa 45%. Der nächste Sprung von 300 °C (82%) zu 460 °C (62%) zeigt die Spaltung der Dopamin-Gruppe und bedeutet einen Massenverlust von 20% bezogen auf die gesamte Masse der Beladung 57%. Der theoretisch berechnete Wert im Molekül liegt dabei etwa bei 52%.

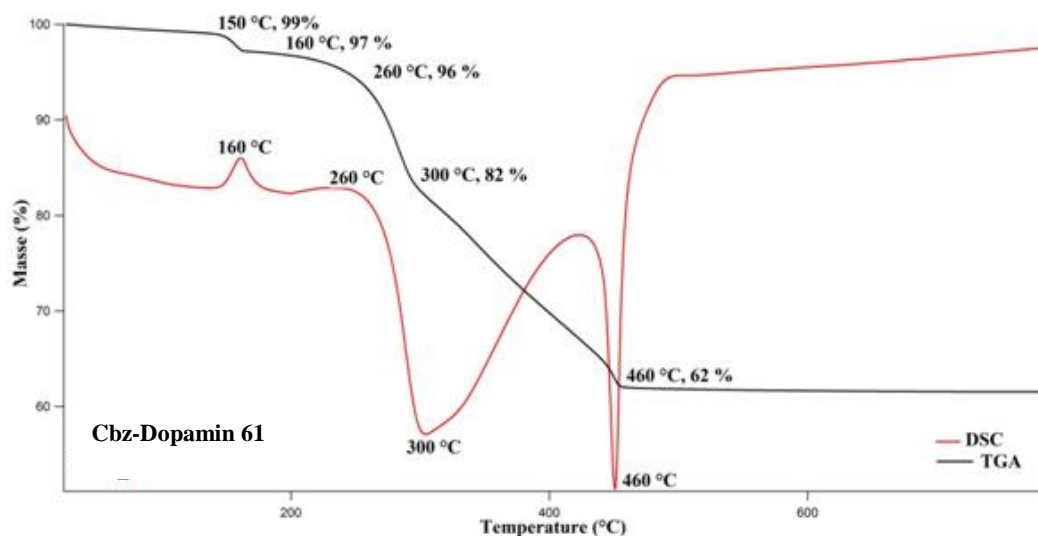


Abbildung 98: TGA und DSC-Ergebnisse des ZnO-Nanopartikel immobilisierten Cbz-Dopamins **61**

Betrachtet man die DSC-Kurve so wird deutlich, dass bei 260 °C ein schwach endothermer Prozess stattfindet, welcher auf die Desorption des adsorbierten Acetylacetonats von der Oberfläche zurückzuführen ist (14% Masseverlust von 260 bis 300 °C, leichter Anstieg der Kurve). Bei 300 °C und 460 °C zeigt die DSC-Kurve einen exothermen Prozess (starker Anstieg der Kurve), was auf die Zersetzung des Cbz-Dopamins **61** hindeutet. Ein schwacher exothermer Prozess findet bei 160 °C statt, dessen Ursprung unklar ist und vielleicht auf eine Verunreinigung geführt werden kann. Nähere Untersuchungen der einzelnen Prozesse wurden nicht unternommen.

Abbildung 99 präsentiert die aufgenommene TGA- und DSC-Kurve des ZnO-Nanopartikel immobilisierten Cbz-geschützten Triscatechols **55**.

Die TGA-Kurve zeigt, dass das immobilisierte Cbz-Triscatechol **55** bis etwa 380 °C thermisch stabil (Spaltung der Amid-Bindung) ist und sich bei höheren Temperaturen zersetzt (leichter Abfall der Kurve ab 250 °C, Spaltung der Carbamat-Bindung). Ein weiterer Zersetzungsprozess ist bei 500 °C zu erkennen (Spaltung der Catechol-Bindung). Ab 550 °C ist nur noch reines ZnO vorhanden, welches im Messbereich bis 800 °C thermisch stabil ist (Kurve bleibt konstant). Der Massenanteil des übrig gebliebenen ZnO beträgt 64%.

Die experimentellen Befunde der Beladung von Cbz-Triscatechol **55** auf ZnO Nanopartikeln stimmen sehr gut mit den theoretisch berechneten Ergebnissen überein. Von 250 °C (98%) bis 300 °C (90%) findet die erste Spaltung im Molekül statt. Dabei handelt es sich um die

Carbamat-Schutzgruppe. Es bedeutet einen Massenverlust von 8%, was auf die gesamte Masse der Beladung einen Anteil von etwa 24% ausmacht (die Verunreinigung ist darin enthalten). Der theoretisch berechnete Wert im Molekül liegt dabei bei etwa 14%. Der nächste Sprung von 300 °C (90%) zu 500 °C (75%) zeigt die Spaltung der Dopamin-Gruppe und, bedeutet einen Massenverlust von 15%, bezogen auf die gesamte Masse der Beladung 44%.

Der theoretisch berechnete Wert im Molekül liegt dabei etwa bei 50%. Die letzte Sprung von 500 °C (75%) zu 550 °C (64%) beinhaltet die Spaltung der Adamantan-Gruppe und bedeutet einen Massenverlust von 11%, bezogen auf die gesamte Masse der Beladung 32%. Der theoretisch berechnete Wert im Molekül liegt dabei etwa bei 35%. Somit kann die Hypothese aufgestellt werden, dass das Molekül nicht nur über die Catecholderivate an die ZnO-Oberfläche bindet, sondern dass es weitere Bindungen/Wechselwirkungen zwischen den Carboxylat-Gruppen des Adamantans und der ZnO-Oberfläche geben muss.

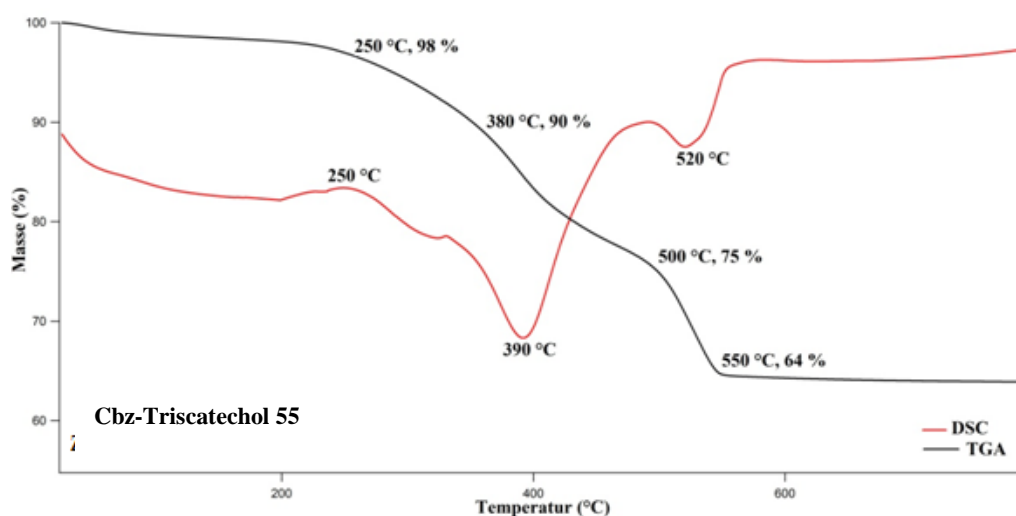


Abbildung 99: TGA und DSC Ergebnisse des ZnO-Nanopartikel immobilisierten Cbz-Triscatechols **55**

Betrachtet man die DSC-Kurve so wird deutlich, dass bei 250 °C ein schwach endothermer Prozess stattfindet, welcher auf die Desorption des adsorbierten Acetylacetonat von der Oberfläche zurückzuführen ist (10% Masseverlust bis 380 °C, leichter Anstieg der Kurve). Bei 390 °C und 520 °C zeigt die DSC-Kurve einen exothermen Prozess (starker Anstieg der Kurve), wodurch man auf die Zersetzung des Cbz-Triscatechols **55** schließen kann.

Besonders hervorzuheben ist hierbei die Tatsache, dass sich das Adamantangerüst offenbar erst bei höheren Temperaturen zersetzt (520 °C), nachdem die anderen Bestandteile des Cbz-Triscatechol schon pyrolysiert sind (390 °C).

Die Ergebnisse der TGA- bzw. DSC Messungen spiegeln das wieder, was bei den vorherigen Stabilitätsuntersuchungen bewiesen werden konnte (Kapitel 3.20). Vergleicht man die TGA- und DSC Kurve der immobilisierten Dopaminderivate auf ZnO-Nanopartikeln mit dem immobilisierten Triscatecholderivat auf ZnO-Nanopartikeln, erkennt man, dass die gebundenen Dopaminderivate früher und bei geringerer Temperatur von der ZnO-Oberfläche desorbieren und sich danach zersetzen, als die gebundenen Triscatecholderivate. Dies ist ein weiterer Beweis für die Hypothese, dass die synthetisierten Triscatecholderivate mit ihren drei Bindungseinheiten eine stärkere Bindung gegenüber dem Dopaminderivat mit seiner einzelnen Bindungseinheit zum ZnO ausbilden und daher stabiler gegenüber äußeren Einflüssen sind.

3.20.2 XPS Messungen

Die Photoelektronenspektroskopie (XPS) ist eine hervorragende Methode für die quantitative Analyse von Festkörperoberflächen einschließlich Monolagen, da sie Informationen über die chemische Beschaffenheit und elektronische Struktur liefert. Die Dicke der Oberflächenschicht kann dabei ca. 5 nm betragen.

Theoretische Grundlage ist der photoelektrische Effekt: Wenn Röntgenstrahlung mit einer Energie im Bereich von 200-2000 eV auf eine Probe trifft, kann es zur Emission von Elektronen kommen. Dabei spricht man von Austrittsarbeit, die mindestens aufgewandt werden muss, um ein Elektron aus einem Festkörper zu lösen. Das emittierte Elektron besitzt eine kinetische Energie E_{kin} , abhängig von der eingestrahnten Energie und dem elektronischen Zustand, aus dem es emittiert wurde. Damit ergibt sich nach dem Energieerhaltungssatz:

$$E(A) + h\nu = E(A^+) + E_{\text{kin}}$$

E = Energie, A = Atom, h = Plancksche Wirkungsquantum, ν = Frequenz

Die Energiedifferenz zwischen dem neutralen Zustand und dem ionisierten wird allgemein als Bindungsenergie (BE) bezeichnet. Die Messgröße bei der XPS ist die kinetische Energie der emittierten Elektronen anhand welcher auf die Bindungsenergien geschlossen werden kann, welche für jedes Element spezifisch sind.

Die Photoelektronenspektroskopie ist eine oberflächensensitive Methode, bei der nur Elektronen in oberflächennahen Bereichen verlustfrei den Festkörper verlassen können.

Die beschichteten ZnO-Oberflächen mit den monovalenten und trivalenten Catecholderivaten wurden auf diese Weise untersucht. Dafür wurden zwei Arten von Röntgenquellen eingesetzt, die üblicherweise in der XPS-Spektroskopie verwendet werden. Erstens eine Mg K α Quelle (1253.6 eV) und zweitens eine Al K α Quelle (1456.6 eV), wobei die emittierenden Photoelektronen eine kinetische Energie von 0-1250 eV bzw. 0-1480 eV besitzen können.

Im XPS-Spektrum wird die Anzahl der Elektronen in Abhängigkeit von der Bindungsenergie (oder kinetischen Energie) aus einem festen Energieintervall dargestellt. Das XPS-Spektrum zeigt die Peaks der Elemente C und O, die bei fast jeder Probe auftreten. Danach werden die stärksten Peaks und die zugehörigen Nebenpeaks identifiziert. Aus den energetischen Lagen der gemessenen Peaks ist eine Zuordnung zu den Elementen an der Schichtoberfläche möglich. Hierzu werden die gemessenen Peaklagen mit Referenzmessungen aus der Literatur verglichen, welche für fast alle Elemente vorliegen. In den meisten modernen kommerziellen XPS-Geräten steht eine Software zur Peakidentifizierung zur Verfügung.

Tabelle 10 zeigt die Ergebnisse der analysierten ZnO-Nanopartikel-Oberflächen mit den Catecholderivaten **54**, **55**, **60** und **61**. Angegeben ist die stöchiometrische Zusammensetzung der jeweiligen beschichteten ZnO-Oberflächen als prozentuale Zusammensetzung bezüglich der Elemente Sauerstoff, Kohlenstoff, Stickstoff und Zink.

Tabelle 10: Stöchiometrische Zusammensetzung der beschichteten ZnO-Oberflächen anhand von XPS-Messungen mit einer Mg K α und Al K α Röntgenquelle, berechnete Zusammensetzung anhand der elementaren

Mg K α	Zusammensetzung in Klammern				Reines ZnO
	ZnO + Alkin-Dopamin 60	ZnO + Cbz-Dopamin 61	ZnO + Cbz-Triscatechol 55	ZnO + Alkin-Triscatechol 54	
O 1s	22.6%	25.2%	26.6%	65.0%	37.0%
C 1s	65.6%	47.3%	67.0%	35.0%	0%
N 1s	2.5%	2.4%	3.2%	0%	0%
Zn 2p	9.3%	25.1	3.2%	0%	63.0%

Al K α	ZnO + Alkin- Dopamin 60	ZnO + Cbz- Dopamin 61	ZnO + Cbz- Triscatechol 55	ZnO + Alkin- Triscatechol 54	Reines ZnO
O 1s	22.7%	24.1%	28.4%	67.3%	32.0%
C 1s	59.5%	51.7%	59.0%	32.7%	0%
N 1s	2.5%	3.0%	6.0%	0%	0%
Zn 2p	15.4%	21.1	6.6%	0%	68.0%

Jede Probe zeigte eine deutliche Immobilisierung der Catecholderivate auf den ZnO-Nanopartikeln, da ein erhöhter Sauerstoff- und Stickstoff Gehalt der Oberfläche im Vergleich zum unbehandelten ZnO zu erkennen ist. Zink ist sowieso vorhanden und die hohen Sauerstoff Werte stammen zum einen von den Catecholderivaten immobilisiert auf der ZnO-Oberfläche, zum anderen von dem ZnO-Nanopartikeln selbst.

Die Probe des reinen ZnO dient dabei als Blindprobe, welche neben Zink und Sauerstoff keine anderen Elemente aufweisen konnte. Eine Übersicht des gesamten XPS-Spektrums ist im experimentellen Teil aufgeführt (Abbildung 118).

4 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Synthese und Charakterisierung von multivalenten, biomimetischen Catecholderivaten für eine mögliche Beschichtung unterschiedlicher Oberflächen.

Diese neuartigen Catecholderivate sind dabei modular aufgebaut und bestehen aus einem zentralen, tetrasubstituierten Adamantankern, der mit drei Ankergruppen und einem Effektormolekül an der vierten Position versehen werden konnte.

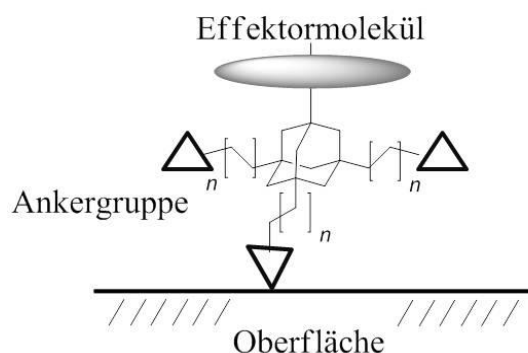


Abbildung 100: Neuartige Catecholderivate auf Adamantanbasis

Der Entwurf dieser Catecholderivate orientierte sich an natürlichen, bekannten Systemen, wie dem Muscheladhäsionsprotein MAP oder dem Siderophor Enterobaktin. Dabei sollte der modulare Aufbau durch Adamantan als Grundgerüst und Dopamin als Ankergruppe erfolgen.

Der Vorteil des Adamantans als Grundgerüst besteht in der Möglichkeit, die Ankergruppe als ein trivalentes Bindungsmotiv einzuführen, um Oberflächen zu funktionalisieren. Weiter bietet die Synthese derartiger Moleküle die Möglichkeit, Spacer verschiedener Länge einzuführen und somit die Ankergruppen in variablen Abständen zum Adamantankern einzuarbeiten. Des Weiteren ist die vierte Position des Adamantylfragments orthogonal funktionalisiert, was einen Einfluss auf die Oberflächenpolarität hat und außerdem die Einführung unterschiedlichster Effektormoleküle, wie Kohlenhydrate, Peptide aber auch Antibiotika ermöglicht. Alle Derivate sind im Multigramm-Maßstab zugänglich (Abbildung 101).

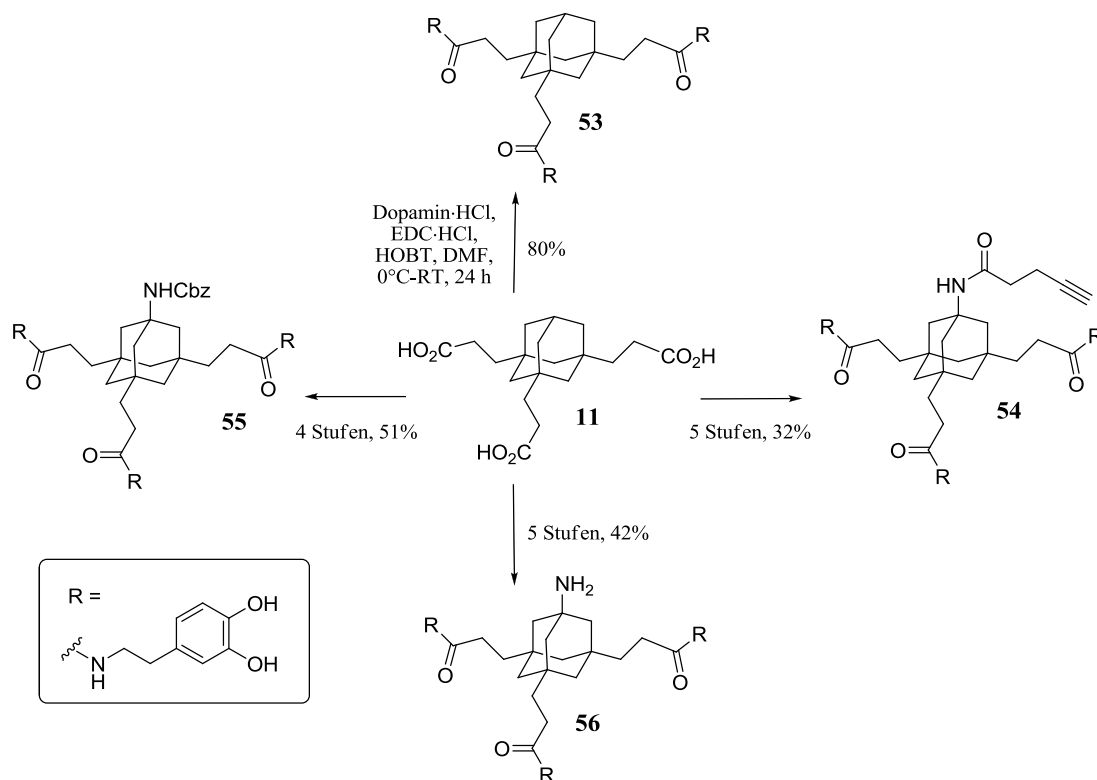
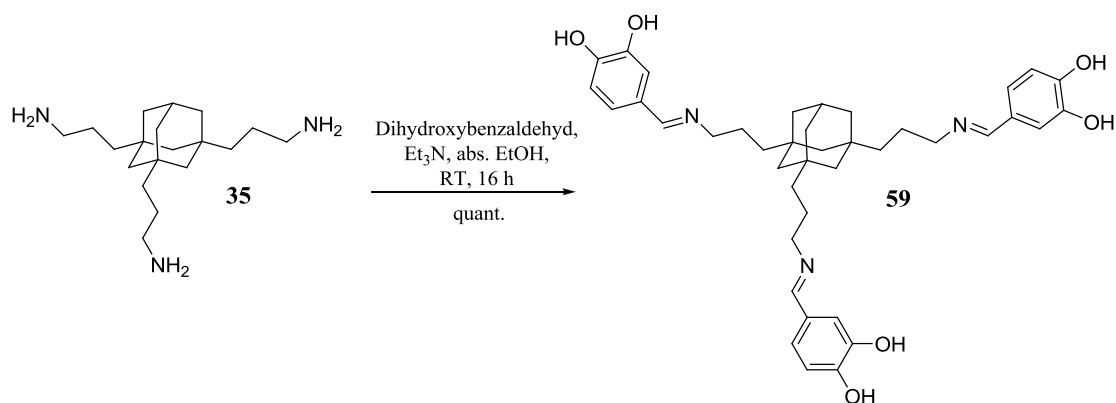


Abbildung 101: Synthese der Catecholderivate

Ausgangsverbindung ist das Tricarboxyadamantan **11**, welches über 3 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 61%, ausgehend von Adamantan **1**, dargestellt werden kann. Eine etablierte Kupplungsstrategie ausgehend von Adamantan **1** und Dopamin-Hydrochlorid **52** mittels EDC·HCl und HOBT ermöglicht eine schnelle und effiziente Einführung der Dopamineinheit.

Weitere Derivate **59** können über eine Iminbildung dargestellt werden (Abbildung 102). Ausgangsverbindung ist dabei das Triaminoadamantan **35**, welches über 3 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 58% ausgehend von **10**, dargestellt werden kann.

Abbildung 102: Synthese des Catecholderivats **59**

Ausgehend vom 1-Bromadamantan **13** kann die Boc-geschützte Adamantantricarbonsäure **57** über 5 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 35% synthetisiert werden. In einer weiteren Stufe konnte das Catecholderivat **58** erhalten werden (Abbildung 103).

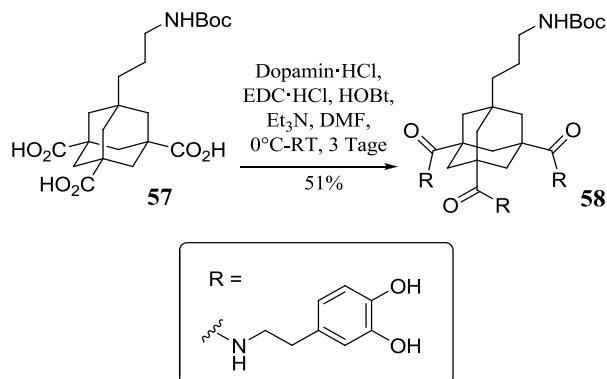


Abbildung 103: Synthese des Catecholderivats **58**

Nach einem etablierten Dip-Coating Verfahren konnten die synthetisierten Catecholderivate erfolgreich auf TiO_2 -Oberflächen immobilisiert werden (Abbildung 104).

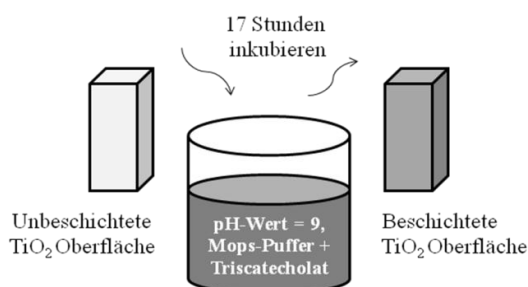


Abbildung 104: Dip-Coating Verfahren zur Beschichtung von TiO_2 -Oberflächen mit den synthetisierten Catecholderivaten als Oberflächenbinder

Mit Methoden der Oberflächenanalytik wie Kontaktwinkelmessungen, SIMS-ToF, Ellipsometrie und XRD konnte die erfolgreiche Immobilisierung auf Metalloberflächen nachgewiesen werden.

Nach der Immobilisierung der Catecholderivate auf TiO_2 - und ZnO -Nanopartikeln war auch eine Charakterisierung mittels FTIR- und DRIFT-Spektroskopie möglich. Durch Kupplung des Catecholderivats **56** an den Farbstoff Eosin Y konnte optisch die Immobilisierung auf TiO_2 -Nanopartikeln verfolgt werden.

Die funktionale Beschichtung von Metalloberflächen gegen das „Biofouling“ konnte erreicht werden, indem das Alkin-funktionalisierte Triscatechol **54** mit dem Effektormolekül Poly(ethylenglycol) PEG **67** über eine 1,3-dipolare *Huisgen-Cycloaddition* versehen wurde.

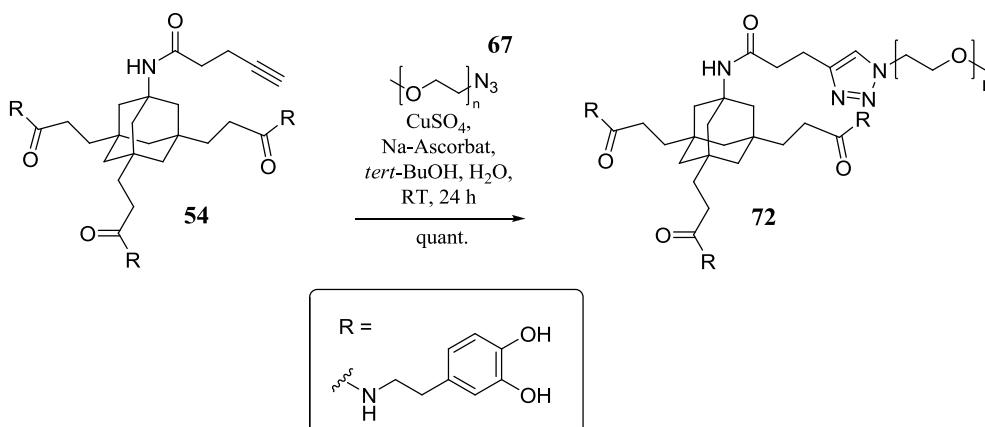


Abbildung 105: Klick-Reaktion

Das so erhaltene PEG-funktionalisierte Triscatechol **72** konnte erfolgreich auf TiO_2 -Oberflächen immobilisiert werden. Mit einem fluoreszenzbasierten Assay konnte anschließend der Antifouling-Effekt des PEG-Triscatechol **72** anhand der Inkubation in Blut demonstriert werden (Abbildung 106).

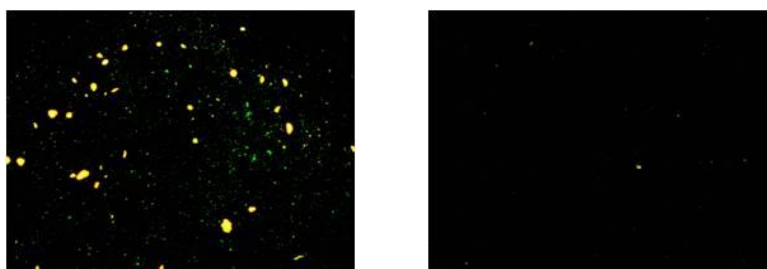


Abbildung 106: Aufnahmen des Fluoreszenzmikroskops (250 μm Auflösung) für die unbeschichtete (links) und beschichtete (rechts) TiO_2 -Oberfläche nach Behandlung mit Blut und Färbung mit Acridin Orange

Die Inkubation der beschichteten TiO_2 -Oberflächen mit Knochenmarkstammzellen bestätigte den Antifouling-Effekt der PEG-Triscatechole und lieferte einen ersten Hinweis auf die toxikologische Unbedenklichkeit der Beschichtungen (Abbildung 107).

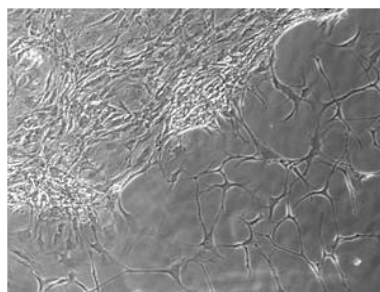


Abbildung 107: Verlauf des „Rückzugs“ der Zellen von der beschichteten Oberfläche und Wachstum in Richtung der unbeschichteten TiO_2 -Oberfläche

Eine letzte Untersuchung in Bezug auf die Oberflächenbeschichtung war die Überprüfung der Bindungsstabilität der trivalenten Catecholderivate. Dafür wurden monovalente Vergleichsderivate **60**, **61** synthetisiert und mit den trivalenten Catecholderivaten **55** verglichen (Abbildung 108 und Abbildung 109).

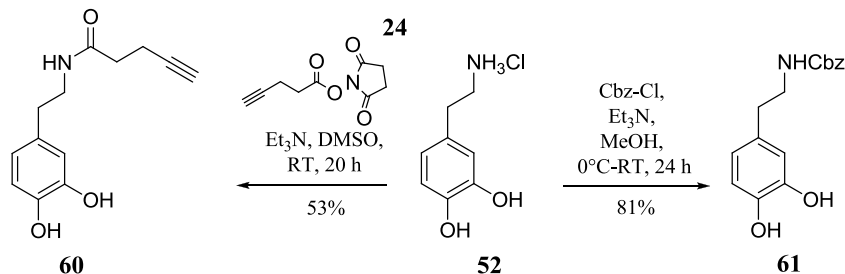


Abbildung 108: Darstellung der Dopaminderivate **60**, **61**

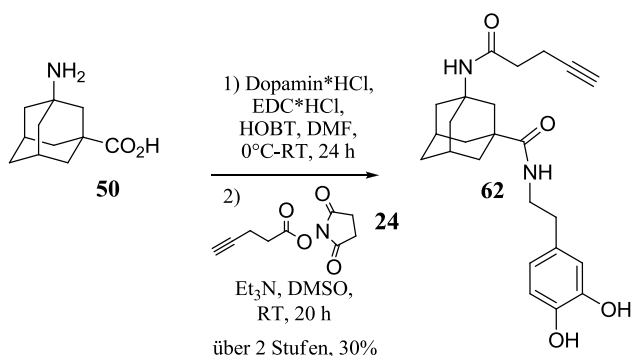


Abbildung 109: Darstellung des Dopaminderivats **62**

Die Untersuchung der Stabilität erfolgte durch die Immobilisierung auf TiO_2 -Nanopartikeln mit einer anschließenden Behandlung in Puffersystemen unterschiedlicher pH-Werte und einer schlussendlichen Charakterisierung mittels FTIR-Spektroskopie. Hier konnte nachgewiesen werden, dass die Dopaminderivate **61** mit einem Ausmaß von 60% von der Oberfläche desorbierten, wohingegen die trivalenten Catecholderivate **55** von einem leicht sauren pH-Wert nahezu unverändert auf der Metalloberfläche verweilten.

Des Weiteren konnten Untersuchungen an immobilisierten Catecholderivaten auf ZnO mittels thermogravimetrischer Analyse (TGA) und dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC) diese Ergebnisse bestätigen.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass Adamantan basierte trivalente Catechole eine dauerhafte Funktionalisierung von Metalloberflächen ermöglichen. Bemerkenswert ist hierbei die hohe Stabilität der Beschichtungen in Wasser auch unter erniedrigtem pH-Wert. Durch Konjugation der Triscatechole mit PEG konnten dauerhafte Antifouling-Oberflächen

erzeugt werden, die beispielsweise für die Anwendung auf Implantaten oder im Bereich der klinischen Hygiene Verwendung finden könnten.

Ein weiterer Bereich dieser Arbeit war die Synthese von Metallchelatoren auf Basis trimerer Catechole.

Es konnten eine Vielzahl von Beispielverbindungen oder Vorläuferverbindungen unterschiedlichster Seitenkettenlängen synthetisiert werden, welche im Multigramm-Maßstab zugänglich sind.

Für das erste Catecholderivat war Trihydroxyadamantan **47** die Ausgangsverbindung, welches in 2 Stufen aus dem reinen Adamantan **1** mit einer Gesamtausbeute von 70% dargestellt werden konnte. Eine weitere Umsetzung mit Dihydroxybenzol führte zu den Derivat **78**, **79** (Abbildung 110).

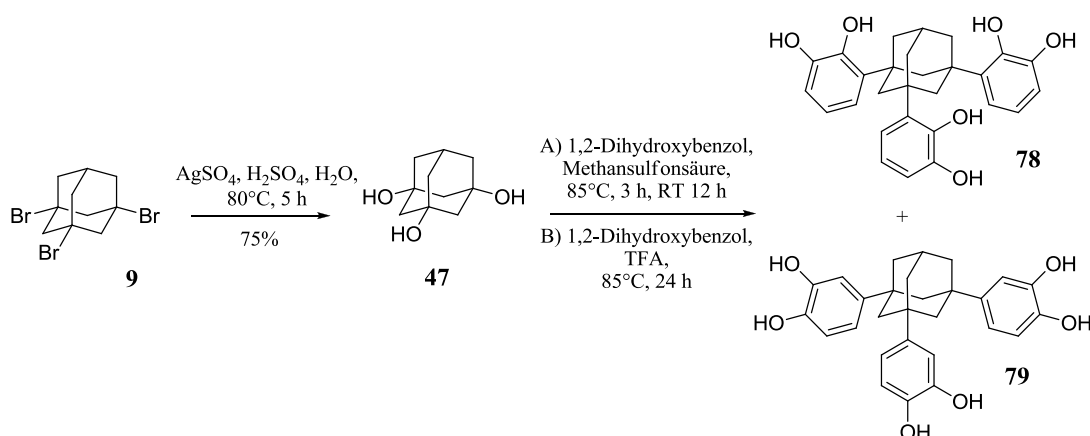
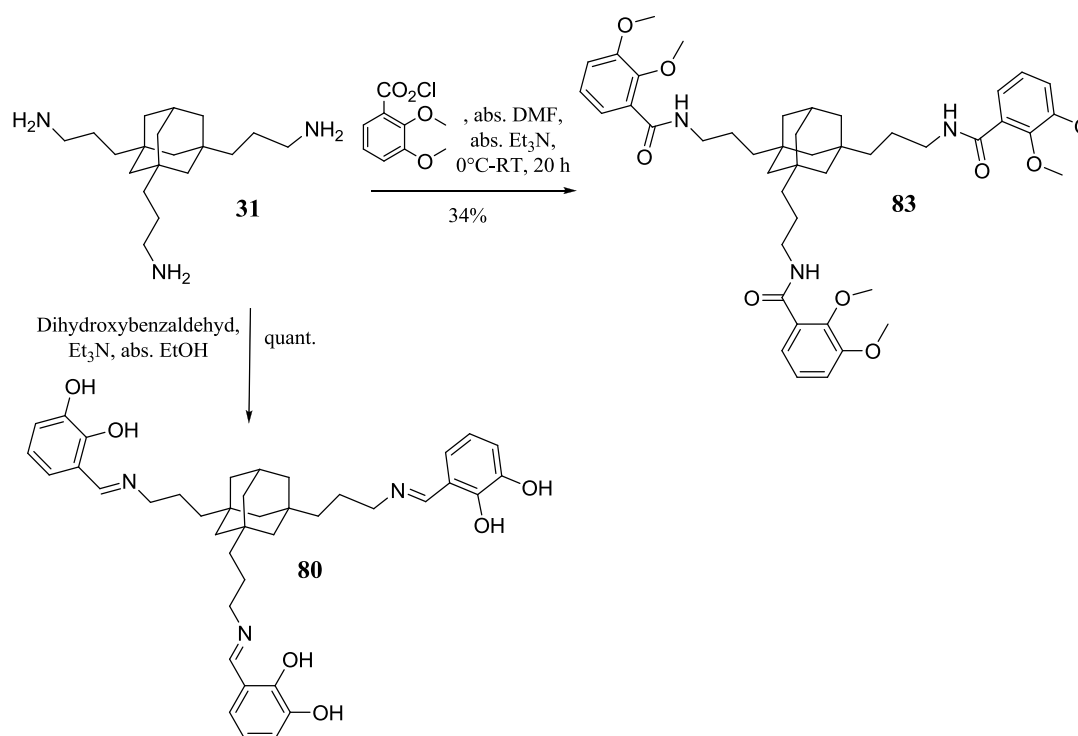
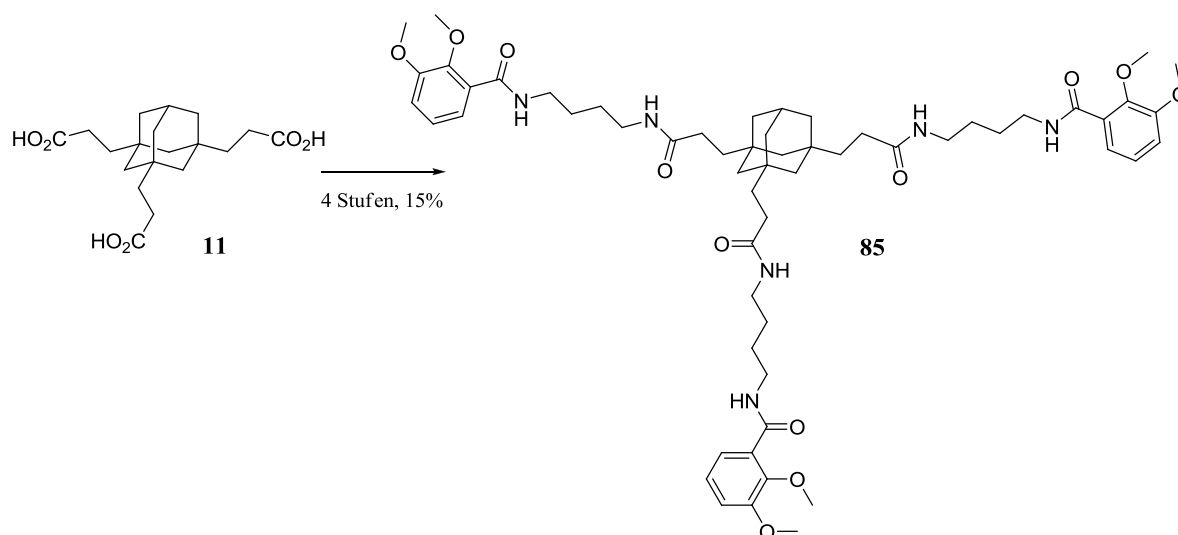


Abbildung 110: Darstellung der Metallchelatoren **78**, **79**

Die weiteren Derivate **80** und **83** konnten aus der Ausgangsverbindung Triaminoadamantan **31** dargestellt werden. Triaminoadamantan **31** konnte zuvor über 3 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 58% ausgehend vom reinen Adamantan **1**, synthetisiert werden (Abbildung 111).

Abbildung 111: Darstellung der Metallchelatoren **80**, **83**

Das letzte Derivat **85** konnte über das Tricarboxyadamantan **11**, ausgehend von Adamantan **1**, in 3 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 61% synthetisiert werden (Abbildung 112).

Abbildung 112: Darstellung des Metallchelators **85**

Es konnten somit eine Vielzahl an Beispielverbindungen oder Vorläuferverbindungen für die Verwendung als Metallchelatoren unterschiedlichster Seitenkettenlänge synthetisiert werden, welche im Multigramm Maßstab zugänglich sind.

Das Ziel zukünftiger Untersuchungen wäre nun die Verknüpfung des Kopffragments mit weiteren Effektormolekülen und deren erfolgreiche Untersuchung in biologischen Assays. Hier wären beispielsweise die Verknüpfung mit Antibiotika und die Untersuchung mit adhärenen Bakterienstämmen sehr interessant. Aus der Literatur ist bekannt, dass geladene Effektormoleküle einen positiven Einfluss auf „Antifouling“-Eigenschaften haben, was ebenfalls interessante Untersuchungen wären, denen man nachgehen könnte. Eine zusätzliche Funktionalität der Oberflächenbinder kann ebenso einen Einfluss auf die Bindungsfähigkeit eben dieser haben, welches weiterhin zu untersuchen notwendig wäre.

Die wichtigste Frage jedoch, die in Zukunft geklärt werden sollte, ist die Anwendung der beschichteten Oberflächen in „in vivo / in vitro“ Tests und ihre Überprüfung der Stabilität unter enzymatischen und oxidativen Bedingungen.

Doch nicht nur Catecholderivate wären für die gezielte modulare Beschichtung von Oberflächen interessant, sondern auch die Substanzklasse der Bisphosphonate wären als Ankergruppen denkbar und wünschenswert. Diese neuartigen Bisphosphonatderivate auf Adamantanbasis wären hervorragende Träger von Wirkstoffen oder Medikamenten, welche man auf Apatit (Knochensubstanz) aufbringen könnte. Des Weiteren könnten diese Derivate als Knochenkleber, funktionalisiert mit einer zusätzlichen Catecholfunktion als eine Verbindung zwischen Knochen und Metalloberfläche, verwendet werden.

5 Summary

This work presents the synthesis and characterization of multivalent, biomimetic catechol derivatives, which are useful for the functionalization of metal surfaces, sensing devices and recognition of metal cations.

These derivatives can be coupled to various effector molecules, such as carbohydrates, proteins, dyes or even antibiotics by standard techniques.

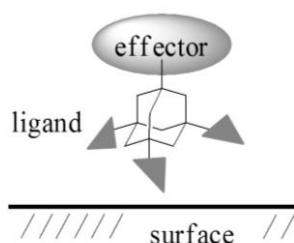
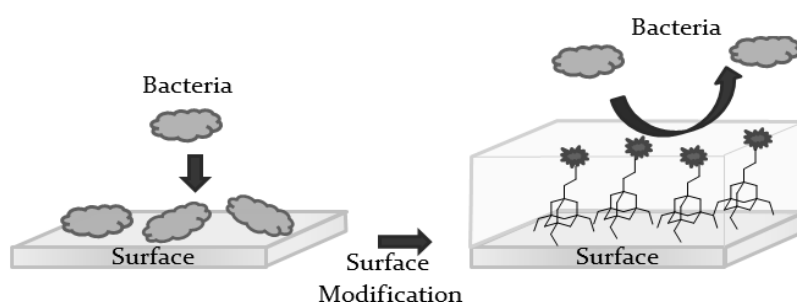


Figure 1: C_3 -symmetric adamantane analogues

Novel surface and cation binders have been synthesized by conjugation of three catechol units and an effector molecule to a central tetrahedral scaffold based on adamantane (Figure 1).

In order to prevent accumulation of cells, proteins and bacteria on surfaces, so called biofouling, it was necessary to modify the surface with hydrophilic polymers (PEGs), based on these adamantane analogues (Scheme 2).



Scheme 2: General concept of adamantane-based scaffolds for surface modification

In this work it was possible to conjugate effector molecules, like PEG, to a central tetrahedral scaffold based on adamantane and demonstrate the successful immobilization on titanium

dioxide (TiO₂) surfaces. With standard techniques of surface analysis it was possible to prove successful immobilization on metal surfaces.

To prove that these surface binders, equipped with a PEG unit, have an effect on the anti-biofouling properties of a coated TiO₂ surface, a biofouling assay was performed by exposing the coated surface to human blood. The in this way treated surfaces were subsequently stained with Acridin orange and analyzed with a fluorescence microscope. The surface binders, bound *via* “dip coating technique” to the TiO₂ surface showed a high antifouling property.

The low toxicity of the synthesized molecules was confirmed by a stem cell test, by incubating the immobilized surfaces for one month in a stem cell medium and analyzing their cell-viability by regular microscope recordings.

The stability of these trivalent surface binders towards the TiO₂-surfaces were investigated with pH- and temperature-stability tests. In comparison to well known monovalent surface binders, like dopamine, these trivalent derivates showed a higher stability in a wide pH-value range.

In advance to surface binders based on the adamantane scaffold with catechol units, a small library of metal cations binders or precursor molecules for these applications were synthesized successfully. The investigation of them shall be subject of future studies.

6 Experimenteller Teil

6.1 Lösungsmittel, Chemikalien und Verbrauchsmaterialien

Die technisch verwendeten Lösungsmittel wurden vor Gebrauch durch Destillation gereinigt. Falls das Arbeiten unter wasserfreien Bedingungen notwendig war, wurden alle Glasgeräte bzw. Apparaturen mit einem Heißluftföhn im Ölpumpenvakuum ausgeheizt. Die verwendeten Lösungsmittel wurden dabei nach Standardverfahren getrocknet und unter Schutzgas und Molsieb (4 \AA) aufbewahrt. Als Schutzgas wurde Stickstoff 5.0 (Airliquide) verwendet.

Die eingesetzten Chemikalien stammten von den Firmen MERCK, ALDRICH, ACROS ORGANICS, LANCASTER oder FLUKA.

Für die Säulenchromatographie und zur Filtration wurde als Füllmaterial Kieselgel 60 mit einer Korngrößenverteilung von 0.063-0.200 mm der Firmen MERCK bzw. MACHEREY-NAGEL verwendet.

Für die Dünnschichtchromatographie dienten DC-Aluminiumfolien der Firmen MERCK bzw. MACHEREY-NAGEL, die mit Kieselgel 60 F₂₅₄ (Korngrößenverteilung 0.063-0.200 mm) beschichtet waren.

Zum Anfärben wurden folgende Reagenzien verwendet:

Cersulfat:	5.0 g Ammoniummolybdat, 0.1 g Cersulfat, 90 mL Wasser und 10 mL konz. Schwefelsäure mit anschließender Wärmebehandlung mittels Heißluftföhn
Ninhydrin:	0.2% Ninhydrin (2,2-Dihydroxy-1,3-indiandion) in Ethanol mit anschließender Wärmebehandlung mittels Heißluftföhn
Molybdatophosphorsäure:	5 g Molybdatophosphorsäure, 100 mL Ethanol mit anschließender Wärmebehandlung mittels Heißluftföhn

Zur weiteren Detektion wurde Licht der Wellenlänge 254 nm verwendet.

6.2 Analytik

NMR-Spektroskopie

Die ^1H -NMR-Spektren wurden bei Raumtemperatur mit TMS als internen Standard an den Spektrometern AV 600, 400 bzw. 200, welches bei 400, 200 und 100 MHz bzw. 151, 1100 und 50 MHz Modus misst, aufgenommen. Die ^{13}C -Spektren wurden mit denselben Geräten, jedoch bei 200, 100 bzw. 50 MHz gemessen. Zur vollständigen Charakterisierung der Produkte wurden des Weiteren COSY-, HMBC- und HMQC-Spektren aufgenommen.

Bei den Spektrometern handelt es sich um die Geräte Avance II 200 MHz „Microbay“ (AV 200), Avance II 400 MHz WB (AV 400) und Avance II 600 MHz WB (AV 600) der Firma BRUKER BIOSPIN GMBH, Rheinstetten.

Zur Kalibrierung wurden folgende Lösungsmittel herangezogen: D_2O , DMSO-d_6 , MeOH-d_4 und CDCl_3 und mit Literaturquellen verglichen.

Die chemischen Verschiebungen sind als dimensionslose δ in ppm angegeben. Für die Signalmultiplizitäten wurden die Abkürzungen s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, m = Multiplett und br = breites Signal verwendet.

Für die Bestimmung der Verschiebung wurden Literaturwerte, das Programm ChemDraw Ultra 8.0.3, CAMBRIDGE SOFT und die Spektrendatenbank SDBS zu Hilfe genommen.

Schmelzpunkt Messungen

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Schmelzpunktmessgerät der Firma BÜCHI (SMP-20) nach Dr. Tottoli bestimmt und sind nicht korrigiert.

CHN-Messungen

Für die CHN-Analysen diente ein C/H/N-Analysator: Carlo Erba 1106 (Waage: METTLER TOLEDO UMX-2).

Massenspektrometrie

Alle Massenspektren mit Direkteinlass und Elektronenstoßionisation (EI) wurden an einem MAT 95 (THERMO FINNIGAN MAT, Bremen) Sektorfeld-Massenspektrometer durch Herrn Dr. E. Röcker durchgeführt, Massenspektren mit Elektronenspray-Ionisation (ESI) wurden an einem FINNIGAN LCQDuo (THERMO FINNIGAN) durchgeführt. ESI-Exakte Masse Bestimmungen und LC-MS Messungen erfolgten an einem MicroToF der Fa. BRUKER DALTONICS, Bremen, durchgeführt, wobei die Massenkalisierung unmittelbar vor der Probenmessung mit Natriumformiat-Clustern erfolgte.

IR-Messungen

Die IR-Spektren wurden mit dem Gerät IF S 25 der Firma BRUKER OPTICS aufgenommen und entweder als KBr Pressling oder als Film der jeweiligen Substanz gemessen. Im Folgenden werden die charakteristischen Signale zwischen $4000\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ wiedergegeben (w = schwach, m = mittel, s = stark).

MALDI-Messungen

Die MALDI-Aufnahmen erfolgten mit einem MALDI-TOF-MS der Firma BRUKER DALTONICS, Bremen, wobei ein 1:1 Acetonitril-Wasser-Gemisch als Lösungsmittel und DHB (5 mg / ml) als Matrix diente. Weitere Einstellungen: Beschleunigungsspannung 25 kV, Reflektorspannung 26.3 kV, N₂ Laser (337 nm), Aufsummierung von 200 bis 1000 Einzelspektren.

Profilometrie

Die Aufnahmen wurden mit einem Alpha-Step IQ der Firma KLA-TENCOR aufgenommen.

Rasterelektronenmikroskop (REM)

Zur Rasterelektronenmikroskopie wurde das Gerät Merlin der Firma ZEISS verwendet.

Ellipsometrie

Der Brechungsindex und die Schichtdicke der TiO₂-Oberflächen wurden mit einem Laser-Ellipsometer der Firma SENTECH Instruments GmbH (SE 400adv) bestimmt.

Kontaktwinkel-Messungen

Kontaktwinkel wurden bei Raumtemperatur mit dem Kontaktwinkelmessgerät Oca 20 der Firma DATA PHYSICS gemessen. Dazu wurden Tropfen mittels HPLC-Wasser der Tropfengröße 2 µL erzeugt.

SIMS-ToF-Messungen

Für die SIMS-ToF Messungen wurde das Gerät TOF.SIMS 5 der Firma iOnTOF (Münster, Deutschland) verwendet. Die Untersuchung erfolgte mittels Bi₃⁺-Primärionenstrahl.

Fluoreszenzmikroskopie

Die Untersuchungen wurden an dem Fluoreszenz-Mikroskop Olympus BX41 mit dem Filter 5 (Blue excitation U-MW1B2) durchgeführt. Bei der Fluoreszenz-Lampe handelte es sich um eine Quecksilberlampe (Olympus U-RFL-T).

XRD-Messungen

Für die durchgeführten XRD-Untersuchungen wurde ein Bruker D8 Advance Diffraktometer mit Bragg-Brentano-Geometrie verwendet, sowie eine Cu K_α Strahlungsquelle (40 kV, 40 mA, $\lambda = 0.15406$ nm). Die Berechnungen der durchschnittlichen Kristallgröße wurden mit Hilfe der Scherrer-Gleichung durchgeführt, wobei die Halbwertsbreite der Reflexe mit Hilfe der Röntgendiffraktogramme abgeschätzt wurde. Die Scans wurden über einen 2θ Bereich von 10-80 durchgeführt. Die experimentellen Parameter wurden wie folgt gewählt:

Schlitzöffnung des Detektors (1.0 nm), Antiscattering Schlitz (0.5 mm), Step size (0.02), Scangeschwindigkeit (10 sek/step).

TGA Messungen

Die thermogravimetrischen Analysen wurden mit einem LabSys Setarm SDT 2960 Instrument an Luft in einem Temperaturbereich von 20-800 °C und einer Heizrate von 10 °C/min durchgeführt.

6.3 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

Immobilisierung der Catecholderivate auf TiO₂-Oberflächen (AAV 1)

Silizium Wafer ((100) orientierte Si-Einkristalle (mit der Größe 2.5 x 2.5 cm)) wurden mit dünnen TiO₂-Filmen der Schichtdicke von 100 nm beschichtet. Die Beschichtung erfolgte durch Hydrolyse von TiCl₄ in H₂O und EtOH.

Diese Oberflächen wurden zweimal mit H₂O und MeOH gereinigt und mittels Druckluft getrocknet.

5 mg der synthetisierten Catecholderivate **53-56** wurden in 5 mL MeOH und 15 mL H₂O gelöst.

5 mL dieser Stammlösung wurden zu 10 mL einer 3-(*N*-Morpholino)propansulfonsäure (MOPS) Pufferlösung (0.1 M MOPS/0.6 M NaCl/ 0.6 M K₂SO₄) gegeben. Die TiO₂-Oberflächen tauchten in diese Lösung aus Catecholderivat und Pufferlösung und verblieben dort für 16 Stunden. Die so beschichteten Oberflächen wurden anschließend intensiv mit H₂O und MeOH gereinigt und mittels Druckluft getrocknet.

Immobilisierung der Catecholderivate auf TiO₂- und ZnO-Nanopartikel (AAV 2)

Die TiO₂-Nanopartikel sind bei Evonik-Degussa (TiO₂, P 25) käuflich erwerblich. Sie haben eine spezifische Oberfläche von 50 +/- 15 mg²g⁻¹, eine Durchschnittspartikelgröße von 21 nm und eine Reinheit von 99.5%.

Die ZnO-Nanopartikel (in der Wurtzit Kristallstruktur) wurden nach folgendem Verfahren synthetisiert. Zn-Acetylacetonat [Zn(acac)₂·H₂O] wurde mit 2 äq. NaOH und H₂O als Lösungsmittel für 6 Stunden bei 80 °C unter Rückfluss erhitzt. Nach Reinigung konnte ZnO mit einer Durchschnittspartikelgröße von 10-16 nm erhalten werden.

TiO₂-Nanopartikel (1 äq. bei Masse) und das jeweilige Catechol (Dopaminderivat: 10 äq., Triscatechol 5 äq.) wurden in 3 mL MeOH, 3 mL H₂O und 100 mL MOPS-Puffer gelöst und im Ultraschallbad für 12 Stunden bei 40 °C belassen. Anschließend wurde die Lösung mittels Zentrifugation abgetrennt, die so beschichteten Nanopartikel intensiv mit H₂O und MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Durchführung der Stabilitätstests (AAV 3)

10 mg der Catechol beschichteten TiO₂-Nanopartikel wurden mit 1 mL MeOH und 7 mL Pufferlösung unterschiedlichen pH-Wertes (siehe Kapitel 3.20) versehen und für 30 Minuten leicht gerührt (Umdrehungen: 1250).

Anschließend wurde die Lösung mittels Zentrifugation abgetrennt, die Nanopartikel intensiv mit H₂O und MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die nachfolgende Charakterisierung erfolgte mittels FTIR-Messungen.

Stammzellen Kultivierung (AAV 4 a)

In Übereinstimmung mit der örtlichen ethischen Zulassung wurden von Knochen abgeleitete stromale Zellen aus humanem Bohrmehl von 2 erwachsenen, männlichen Patienten im Alter von 64 und 75 Jahren, das während einer Operation auf Grund eines Knochenbruchs anfiel, geerntet. Beide Patienten litten nicht an Sekundärerkrankungen oder zusätzlichen

Verletzungen. Das Knochenbohrmehl wurde in eine Lösung aus F12K-Medium mit 20% fötalem Kälberserum (FCS, PAA, Österreich), 0.05 U/mL Penicillin und 0.05 µg/mL Streptomycin bei einer Luftfeuchtigkeit von 95%, 5% CO₂ Atmosphäre inkubiert. Die heranwachsenden stromalen Zellen wurden gesammelt und auf dem zu testenden Material ausgesät (20 000/cm²). Das Medium wurde zweimal pro Woche gewechselt. Nach einer Woche wurden zur Differenzierung der Zellen ein Teil der Proben osteogen gesetzt. Das Medium enthielt nun 10% FCS, 0.1 µM Dexamethason, 0.05 mM Ascorbinsäure-2-Phosphat, 10 mM β-Glycerinphosphat (Sigma, Taufkirchen, Deutschland) und Penicillin/Streptomycin. Die Zellen wurden für einen Monat unter diesen Bedingungen kultiviert. Zur Überprüfung der Lebensfähigkeit der Zellen wurden zweimal pro Woche mit einem inversen Mikroskop (LEICA, Wetzlar) Aufnahmen gemacht und diese analysiert.

Durchführung des Biofouling-Assays (AAV 4 b)

Die TiO₂-Oberflächen (1 x 2 cm) wurden zur Hälfte mit Catecholderivaten **71**, **72** nach Vorschrift (AAV 1) beschichtet. Einziger Unterschied war, dass die Beschichtung nicht bei Raumtemperatur, sondern bei 50 °C durchgeführt wurde.

Daraufhin wurden die beschichteten TiO₂-Oberflächen für 2 Stunden in HEPES-Puffer (0.1 M HEPES, pH = 7.56) eingelegt, sodass sich die PEG-Effektormoleküle in der hohen Puffer-Salzkonzentration ausrichten konnten.

Direkt im Anschluss erfolgte die Behandlung der Oberflächen in 3 mL Blut (frisches Blut, welches am gleichen Morgen dem Spender entnommen und mit EDTA gegen die Gerinnung behandelt wurde) für 1 Stunde bei 37 °C.

Danach wurden die Oberflächen dreimal mit jeweils 3 mL PBS-Puffer (137.0 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10.0 mM Na₂HPO₄·2H₂O und 1.8 mM KH₂PO₄, pH=7.4) vorsichtig gewaschen. Zum Anfärben von Nucleinsäuren, DNA, RNA und Zellbestandteilen wurden die Oberflächen in 2 mL Acridinorange (0.1% Gew.) für 10 Minuten behandelt und im Anschluss erneut mit 3 mL PBS-Puffer vorsichtig gewaschen. Zusätzlich erfolgte eine Inkubation gewisser Oberflächen für 3 Tage in Blut (Blut:PBS; 3:1).

Die anschließende Charakterisierung geschah mittels Ellipsometrie, Kontaktwinkel-messungen und Betrachtung der Proben unter einem Fluoreszenz-Mikroskop.

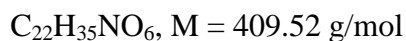
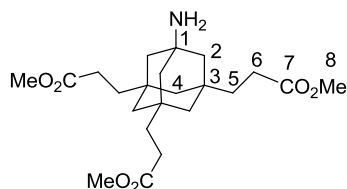
6.4 Darstellung der Adamantangrundgerüste

Folgende Substanzen wurden nach beschriebenen Verfahren aus der Literatur dargestellt:

1,3,5-Tribromadamantan **9**,¹⁵⁵ 1,3,5-Tris-(2-cyanoethyl)-adamantan **10**,¹⁰⁹ 1,3,5-Tris-(2-carboxyethyl)-adamantan **11**,¹⁰⁹ 1-Acetylamino-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan,¹¹⁰ 1-Amino-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan Hydrochlorid **12**,¹¹⁰ 1,3,5-Triphenyladamantan **14**,¹⁰⁹ 1-Brom-3,5,7-triphenyladamantan **15**,¹⁰⁹ 7-(2-Cyanoethyl)-1,3,5-triphenyladamantan **16**,¹⁵⁶ 1,3,5-Tricarboxy-7-(2-cyanoethyl)-adamantan **17**,¹⁵⁶ 7-(3-Aminopropyl)1,3,5-tricarboxy-adamantan **18**,¹⁵⁶ 1,3,5-Tri-(3-aminopropyl)-adamantan **35**,^{157, 109} 1-Acetalamino-3-carboxyadamantan,¹⁵⁷ 1-(3-*tert*-Butoxycarbonylamino)-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan **36**,¹⁵⁶ 1,3,5-Trihydroxyadamantan **47**,¹⁵⁷ 1-Amino-3-carboxyadamantan Hydrochlorid **50**,¹⁵⁷ 7-(N-Boc-3-Aminopropyl)-1,3,5-tricarboxyadamantan **57**,¹⁵⁶ 1-(1,2-Dihydroxyphenyl)-adamantan **67, 77**,¹⁵⁸ Pamidronat¹⁵⁹

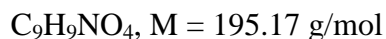
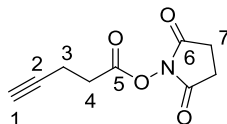
6.5 Kopffragmente

1-Amino-3,5,7,-tris [(2-carboxymethyl)-ethyl]-adamantan **19** ¹⁶⁰



Zu 0.75 g (1.85 mmol) der *Tricarbonsäure* **12** in 75 mL abs. MeOH wurden langsam unter Eiskühlung 1.32 mL (11.10 mmol) Thionylchlorid und wenige katalytische Tropfen DMF gegeben und weitere 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum, erneuter Aufnahme mit gesättigter, wässriger NaHCO_3 , fünfmaligem Ausschütteln mit EtOAc und erneutem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum konnten 0.14 g (0.34 mmol) eines farblosen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 70% entspricht.

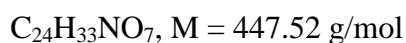
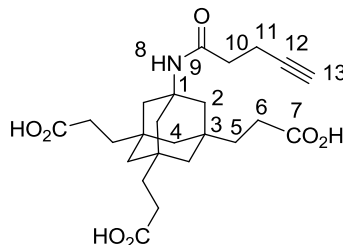
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 3.63 (s, 9H, 8-H), 2.22 (t, 6H, $^3J = 8.0$ Hz, 6-H), 1.50 (t, 6H, $^3J = 8.0$ Hz, 5-H), 1.19 (s, 6 H, 2-H), 1.04 (d, 3 H, $^2J = 12.0$ Hz, 4a-H), 1.01 (d, 3H, $^2J = 12.0$ Hz, 4b-H); **$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3):** δ [ppm] = 174.6 (C7), 51.7 (C8), 49.6 (C1), 49.1 (C4), 45.1 (C2), 37.5 (C5), 35.3 (C3), 28.2 (C6); **MS-ESI m/z (%):** gefunden = 410.1 $[\text{M}+\text{H}]^+(65)$.

NHS-Ester der 4-Pentinsäure 24

0.50 g (5.10 mmol) 4-Pentinsäure wurden in 30 mL dest. DMF gelöst, mit 0.88 g (7.65 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid, 1.47 g (7.65 mmol) EDC·HCl versehen und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde die Lösung bis zur Trockenheit eingeeengt, in EtOAc aufgenommen und dreimal mit 30 mL dest. H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Es konnten 0.89 g (4.54 mmol) eines farblosen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 89% entspricht.

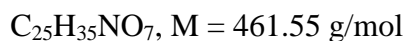
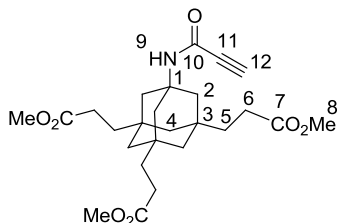
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2.76-2.73 (m, 6H, 4-H, 7-H), 2.53 (td, 2H, ³*J* = 4.6 Hz, ²*J* = 2.8 Hz, 3-H), 1.96 (s, 1H, 1-H); **¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃):** δ [ppm] = 169.2 (C5), 167.2 (C6) 80.9 (C1), 70.0 (C2) 30.2, (C4), 25.5 (C7), 14.0 (C3); **MS-ESI m/z (%):** gefunden = 196.3 [M+H]⁺(85).

1-(Pent-4-inamido)-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl) -adamantan **25** ¹⁶¹

0.25 g (1.23 mmol) des 1-Amino-3,5,7-tris(2-carboxyethyl)adamantans wurden in 30 mL dest. DMSO und 0.35 mL (2.50 mmol) *N,N*-Diethylethanamin gelöst, mit 0.18 g (0.62 mmol) des NHS-Ester Alkins **24** vereint und die Lösung 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in 50 mL dest. H₂O aufgenommen und dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinten, organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Vollständigkeit der Reaktion wurde mittels ESI-MS überprüft.

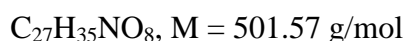
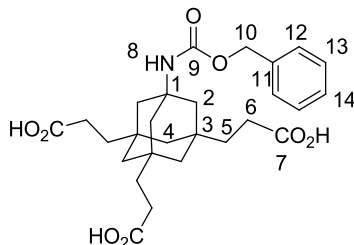
MS-ESI m/z (%): gefunden = 448.3 [M+H]⁺ (74).

Danach wurde das Rohprodukt in wässriger 1 M NaOH aufgenommen und dreimal mit EtOAc gewaschen, das H₂O im Vakuum entfernt und das Produkt ohne weitere Reinigung umgesetzt.

1-(Propiolamido)-3,5,7-tris-[(2-carboxymethyl)-ethyl]-adamantan **26**

0.69 g (1.58 mmol) des Methylesters **19** und 0.14 g (2.03 mmol) Propiolsäure wurden in abs. CH_2Cl_2 gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Nach 5 Minuten wurden 0.42 g (2.03 mmol) DCC dazugegeben und 24 Stunden gerührt. Das überschüssige DCU wurde abfiltriert. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnten 0.63 g (1.50 mmol) eines gelben Öls erhalten werden, was einer Ausbeute von 95% entspricht.

$R_f = 0.24$ (Petrolether/EtOAc 1:1), Ninhydrin; **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):** δ [ppm] = 5.96 (s, 1H, 9-H), 3.58 (s, 9H, 8-H), 2.69 (s, 1H, 12-H), 2.18 (t, 6H, $^3J = 8.2$ Hz, 6-H), 1.56 (s, 6 H, 2-H), 1.46 (t, 6H, $^3J = 8.2$ Hz, 5-H), 1.08 (d, 3 H, $^2J = 12.0$ Hz, 4a-H), 0.98 (d, 3H, $^2J = 12.0$ Hz, 4b-H); **$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3):** δ [ppm] = 174.3 (C7), 151.1 (C10), 78.1 (C11), 71.7 (C12), 54.9 (C8), 51.6 (C1), 44.8 (C4), 44.3 (C2), 37.3 (C5), 34.8 (C3), 27.9 (C6); **HRMS (ESI):** berechnet für $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{NO}_7\text{Na}^+ [\text{M}+\text{Na}]^+ = 484.2306$, gefunden = 484.2308; **IR (Film):** ν [cm^{-1}] = 3259 (s), 2919-2851 (s), 2104 (m), 1732 (s), 1651 (s), 1535 (s), 1453-1437 (s), 1353-1199 (s), 1087-1018 (w).

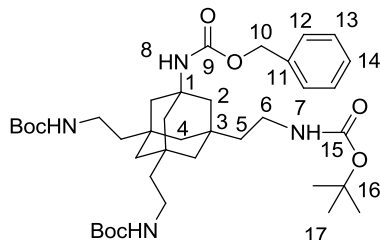
1-(*N*-Cbz)-1,3,5-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan **32**¹⁶¹

0.30 g (4.09 mmol) NaHCO_3 wurden in 30 mL dest. H_2O gelöst und zu einer Lösung aus 0.50 g (1.2 mmol) Adamantancarbonsäure **12** in 30 mL Dioxan gegeben. Um einen pH-Wert von etwa 9 zu erhalten, wurde gegebenenfalls 2 M wässrige NaOH zugegeben. 0.24 mL (1.74 mmol) Cbz-Cl wurden zu der Reaktionslösung bei 0 °C langsam zugetropft, 24 Stunden gerührt und die Vollständigkeit der Reaktion mittels Ninhydrin Test überprüft. Die wässrige, basische Phase wurde dreimal mit CH_2Cl_2 und dreimal mit EtOAc gewaschen, danach mit 2 M wässriger HCl auf pH-Wert 1 angesäuert, erneut sechsmal mit EtOAc ausgeschüttelt, die organische Phase über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Es konnten 0.52 g (1.05 mmol) eines farblosen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 84% entspricht.

Smp.: 221 °C; **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO):** δ [ppm] = 12.0 (br s, 3H, 7-H), 7.28-7.38 (m, 5H, 12-14-H), 7.0 (s, 1H, 8-H), 4.95 (s, 2H, 10-H), 2.13 (t, 6H, $^3J = 7.9$ Hz, 6-H), 1.46 (s, 6H, 2-H), 1.37 (t, 6H, $^3J = 8.2$ Hz, 5-H), 1.04 (d, 3H, $^2J = 13.2$ Hz, 4a-H), 1.00 (d, 3H, $^2J = 13.2$ Hz, 4b-H); **$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO):** δ [ppm] = 175.0 (C7), 154.2 (C9), 137.3 (C11), 128.4 (C13), 127.7 (C14), 127.7 (C12), 64.6 (C10), 52.0 (C1), 44.5 (C4), 44.5 (C2), 37.5 (C5), 34.3 (C3), 27.9 (C6); **HRMS (ESI):** berechnet für $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{NO}_8\text{Na}^+ [\text{M}+\text{Na}]^+ = 524.2255$, gefunden = 524.2260; **IR (KBr-Pressling):** ν [cm^{-1}] = 3330 (m), 3066 (m), 2918 (m), 2852 (w), 1706 (s), 1526 (m), 1454 (m), 1413 (m), 1353 (m), 1308 (m), 1280 (m), 1232 (m), 775 (w), 738 (w), 696 (w).

6.6 Seitenketten

1-(*N*-Cbz)-1,3,5-tris-[2-(*N,N,N*-Boc-2-aminoethyl)]-adamantan **33** ¹⁶⁰

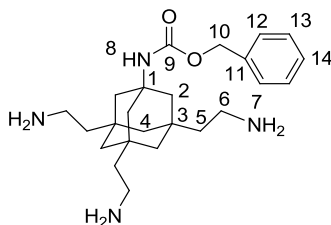


$C_{39}H_{62}N_4O_8$, $M = 714.93$ g/mol

0.31 g (0.61 mmol) der Cbz-geschützten Carbonsäure **32** wurde in abs. CH_2Cl_2 gelöst und mit 0.60 mL (2.38 mmol) DPPA und 0.60 mL (4.32 mmol) *N,N*-Diethylethanamin versetzt und per DC Kontrolle 8 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand in 50 mL abs. *tert*-Butanol gelöst, 24 Stunden unter Rückfluss und Stickstoffatmosphäre erhitzt und danach weitere 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, das Rohprodukt wurde in CH_2Cl_2 aufgenommen, sechsmal mit wässriger 2 N NaOH gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum konnte das Rohprodukt (0.89 g) säulenchromatographisch gereinigt werden. [EtOAc/Petrolether 2:1, EtOAc/MeOH 10:1 ($R_f = 0.69$)]

Es konnten 0.25 g (0.35 mmol) eines gelblichen Öls erhalten werden, was einer Ausbeute von 58% entspricht.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 7.2-7.1 (m, 5H, 12-14-H), 4.9 (s, 2H, 10-H), 3.0-2.9 (m, 6H, 6-H), 1.57-1.55 (m, 6H, 5-H), 1.4 (s, 27H, 17-H), 1.35-1.34 (m, 6H, 2-H), 1.16-1.14 (m, 6H, 4-H); **^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$):** δ [ppm] = 155.91 (C15), 154.3 (C9), 136.5 (C11), 129.6 (C13), 128.4 (C14), 127.9 (C12), 79.1 (C16), 64.6 (C10), 51.6 (C1), 45.5 (C4), 42.7 (C2), 35.6 (C6), 35.6 (C5), 34.6 (C3), 28.4 (C17); **MS-ESI m/z (%):** gefunden = 737.5 $[M+Na]^+$ (100); **IR (KBr-Pressling):** ν [cm^{-1}] = 3404 (m), 2898-2841 (w), 1644 (s), 1544-1521 (w), 1463 (m), 1359 (w), 1232 (m), 1025 (w), 738 (w).

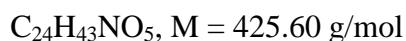
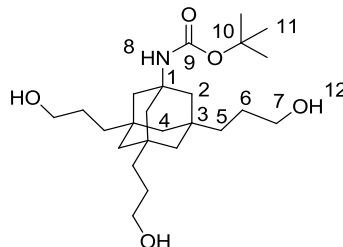
1-(N-Cbz)-1,3,5-Tris-(3-aminoethyl)-adamantan **34**¹⁶⁰

$C_{24}H_{38}N_4O_2$, $M = 414.58 \text{ g/mol}$

0.25 g (0.35 mmol) des Boc-geschützten Amins **33** wurden in 40 mL dest. CH_2Cl_2 gelöst, mit 10 mL TFA versetzt und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde danach dreimal mit der gleichen Menge an CH_2Cl_2 koevaporiert.

Es konnten 0.14 g (0.34 mmol) des entschützten Amins erhalten werden, was einer Ausbeute von 100% entspricht.

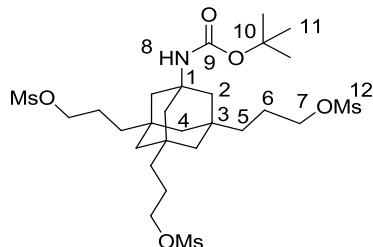
1H -NMR (400 MHz, DMSO): δ [ppm] = 7.9-7.7 (m, 6H, 7-H), 7.3-7.1 (m, 5H, 12-14-H), 4.9 (s, 2H, 10-H), 1.5-1.4 (m, 12H, 5-H, 6-H), 1.2-1.1 (m, 6H, 2-H), 1.1-0.9 (m, 6H, 4-H); **^{13}C -MR (100 MHz, DMSO):** δ [ppm] = 154.1 (C9), 137.2 (C11), 128.3 (C13), 127.7 (C14, C12), 64.6 (C10), 51.6 (C1), 44.7 (C4), 44.5 (C2), 34.2 (C5), 34.0 (C3), 33.8 (C6); **HRMS (ESI):** berechnet für $C_{24}H_{39}N_4O_2^+ [M+H]^+$ = 415.3068, gefunden = 415.3060; **IR (Film):** ν [cm^{-1}] = 2916 (m), 1689 (s), 1520-1365 (m), 1248-1025 (s), 798-720 (w).

1-(3-*tert*-Butyloxycarbonylamino)-3,5,7-tris-(3-hydroxypropyl)-adamantan 37

Zu einer Lösung von 50 mg der Boc-geschützten Aminocarbonsäure **36** (0.11 mmol) in abs. THF wurde langsam 0.54 mL (0.54 mmol) einer 1 M BH_3 -Lösung in THF bei 0 °C dazu getropft. Die Reaktionslösung wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 10 mL dest. H_2O und 10 mL gesättigter, wässriger NaHCO_3 Lösung versetzt, wobei sich die trübe Lösung klärte. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

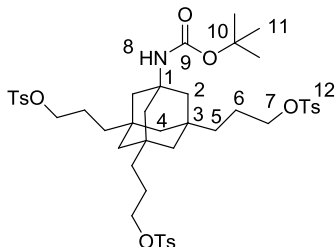
Der Feststoff wurde dreimal in 50 mL EtOH zum Sieden erhitzt, heiß filtriert und erneut bis zur Trockenheit eingeeengt. Die Vollständigkeit der Reaktion wurde mittels ESI-MS überprüft. Der Trialkohol wurde als Rohprodukt (84 mg) erhalten und ohne weitere Reinigung umgesetzt.

^1H -NMR (400 MHz, D_2O): δ [ppm] = 3.58 (t, 6H, $^3J = 6.8$ Hz, 7-H), 1.51-1.57 (m, 12H, 2-H, 6-H), 1.39 (s, 9H, 11-H), 1.09-1.21 (m, 12H, 4-H, 5-H); **MS-ESI m/z (%):** gefunden= 448.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100).

1-(3-*tert*-Butyloxycarbonylamino)-3,5,7-tris-(3-mesyloxypropyl)-adamantan **38**

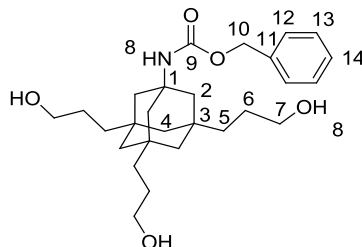
Das Rohprodukt des Trialkohols **37** wurde in 20 mL abs. CH_2Cl_2 gelöst und auf 0 °C gekühlt. Dazu wurde 77 μL (0.48 mmol) dest. *N,N*-Diethylethanamin gegeben und 15 Minuten gerührt. Nach Zugabe von 39 μL (0.49 mmol) Methansulfonylchlorid wurde die Reaktion für 20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, dann durch Zugabe von MeOH hydrolysiert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand in 20 mL dest. CH_2Cl_2 aufgenommen, mit derselben Menge an H_2O , wässriger 1 M HCl und gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum konnte die mesylatgeschützte Verbindung massenspektrometrisch nachgewiesen und ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt werden.

MS-ESI m/z (%): gefunden 682.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100).

1-(3-*tert*-Butyloxycarbonylamino)-3,5,7-tris-(3-tosyloxypropyl)-adamantan $\text{C}_{45}\text{H}_{61}\text{NO}_{11}\text{S}_3$, $M = 888.16 \text{ g/mol}$

Das Rohprodukt des Trialkohols **37** wurde in 20 mL abs. CH_2Cl_2 gelöst und auf 0 °C gekühlt. Dazu wurde 0.066 mL (0.482 mmol) dest. *N,N*-Diethylethanamin gegeben und 15 Minuten gerührt. Nach weiterer Zugabe von 64 μL (0.497 mmol) para-Toluolsulfonsäurechlorid wurde das Gemisch für 20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, dann durch Zugabe von MeOH hydrolysiert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, in 20 mL dest. CH_2Cl_2 aufgenommen, mit derselben Menge an H_2O , wässriger 1 M HCl und gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum konnte die tosylatgeschützte Verbindung massenspektrometrisch nachgewiesen werden. Ohne weitere Reinigung wurde diese Verbindung weiter umgesetzt.

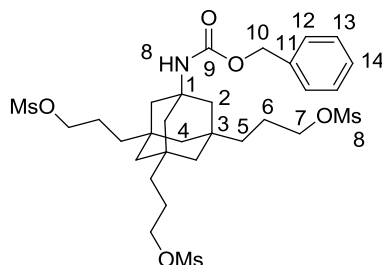
MS-ESI m/z (%): gefunden = 910.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100).

1-(*N*-Cbz)-1,3,5-tris-(3-hydroxypropyl)-adamantan **40**¹⁶⁰

$C_{27}H_{41}NO_5$, $M = 459.61$ g/mol

Zu einer Lösung von 0.48 g der Cbz-geschützten Aminocarbonsäure **32** (0.96 mmol) in abs. THF wurde langsam 9.57 mL (9.57 mmol) einer 1 M BH_3 -Lösung in THF bei 0 °C getropft. Die Reaktionslösung wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 10 mL dest. H_2O und 10 mL gesättigter, wässriger $NaHCO_3$ Lösung versetzt, wobei sich die trübe Lösung klärte. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Feststoff wurde dreimal in 50 mL EtOH zum Sieden erhitzt, heiß filtriert und erneut bis zur Trockenheit eingeengt. Der Trialkohol wurde als Rohprodukt (0.50 g) erhalten und wurde ohne weitere Reinigung umgesetzt.

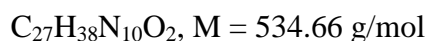
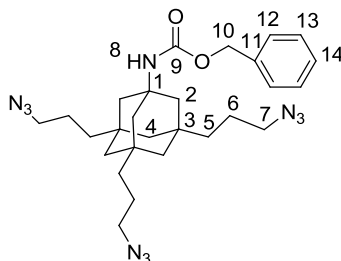
MS-ESI m/z (%): gefunden= 482.6 $[M+Na]^+$ (90).

1-(*N*-Cbz)-1,3,5-tris-(3-mesyloxypropyl)-adamantan **41** ¹⁶⁰

$C_{30}H_{47}NO_{11}S_3$, $M = 693.89$ g/mol

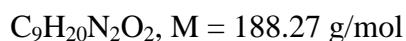
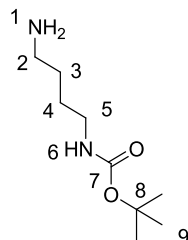
Das Rohprodukt des Trialkohols **40** wurde in 50 mL abs. CH_2Cl_2 gelöst und auf 0 °C gekühlt. Dazu wurde 0.59 mL (4.31 mmol) dest. *N,N*-Diethylethanamin gegeben und 15 Minuten gerührt. Nach weiterer Zugabe von 0.33 mL (4.31 mmol) Methansulfonylchlorid wurde die Reaktion für 20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, dann durch Zugabe von MeOH hydrolysiert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, in 60 mL dest. CH_2Cl_2 aufgenommen, mit derselben Menge an H_2O , gesättigter, wässriger $NaHCO_3$ Lösung, gesättigter und wässriger $NaHSO_4$ Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum konnte die mesylat aktivierte Verbindung massenspektrometrisch nachgewiesen und ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt werden.

MS-ESI m/z (%): gefunden 694.9 $[M+H]^+$ (100).

1-(*N*-Cbz)-1,3,5-tris-(3-azidopropyl)-adamantan **42**¹⁶⁰

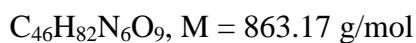
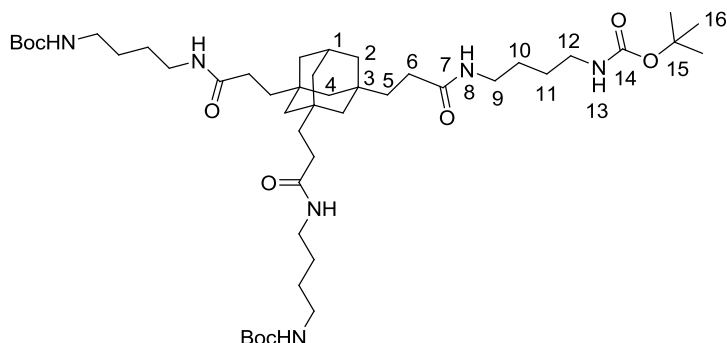
Das Rohprodukt der mesylat aktivierten Verbindung **41** wurde in 40 mL abs. DMF gelöst, 0.28 g (4.31 mmol) NaN_3 hinzugegeben und 26 h bei 60 °C gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand in 30 mL EtOAc aufgenommen, mit derselben Menge an H_2O , gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen und mit Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum und säulenchromatographischer Reinigung ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 10:1$) konnten 0.15 g (0.27 mmol) des Produkts erhalten werden, was einer Ausbeute von 30% über 3 Stufen entspricht.

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.3-7.2 (m, 5H, 12-14-H), 4.9 (s, 2H, 10-H), 4.6 (s, 1H, 8-H), 3.1 (t, 6H, $^3J = 8.6$ Hz, 7-H), 1.5-1.4 (m, 12H, 5-H, 6-H), 1.1-0.9 (m, 12H, 4-H, 2-H); **^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3):** δ [ppm] = 158.5 (C9), 136.4 (C11), 128.3 (C13), 127.9 (C14, C12), 65.9 (C10), 52.6 (C1), 51.9 (C7), 45.5 (C4), 45.2 (C5), 39.8 (C2), 34.9 (C3), 22.3 (C6); **HRMS (ESI):** berechnet für $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{N}_{10}\text{O}_2\text{Na}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 557.3071, gefunden = 557.3067; **IR (Film)** ν [cm^{-1}] = 3339 (w), 2908-2844 (m), 2096 (s), 1725 (m), 1507 (m), 1453 (m), 1351-1150 (m), 1118 (w), 1025 (w), 737 (w).

Mono-Boc- Butan-1,4-diamin 44 ¹⁶⁰

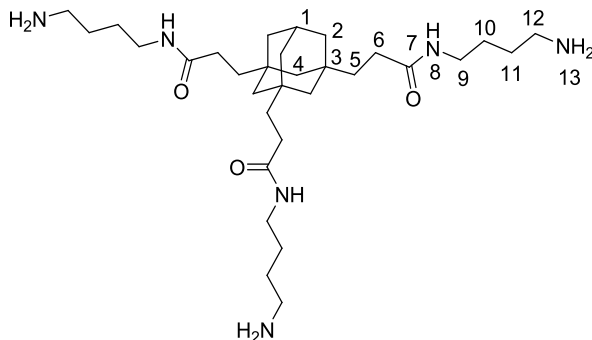
Zu einer Lösung aus 7.40 mL (74.0 mmol) 1,4-Diaminobutan in 30 mL THF wurde unter Eiskühlung innerhalb von 30 Minuten eine Lösung aus 1.60 g (7.40 mmol) Boc_2O in 40 mL THF zugetropft. Nach der Zugabe wurde die Reaktionslösung für weitere 30 Minuten im Eisbad und anschließend 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand mit EtOAc aufgenommen und dreimal mit gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen, die organische Phase mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Dabei konnten 2.75 g (14.60 mmol) eines gelblichen, öligen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 20% entspricht.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 5.1 (s, 1H, 6-H), 2.9-2.7 (m, 2H, 5-H), 2.5 (t, $^3J = 8.0$, 2H, 2-H), 1.32-1.28 (m, 4H, 4-H, 3-H), 1.23 (s, 11 H, 1-H, 9-H); **$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3):** δ [ppm] = 155.8 (C7), 78.2 (C8), 41.2 (C2), 39.9 (C5), 30.3 (C3), 28.0 (C9), 27.0 (C4); **MS-ESI m/z (%):** gefunden = 189.0 $[\text{M}+\text{H}]^+(100)$.

Boc-geschütztes Adamantantriamin 45¹⁶⁰

Es wurden 0.30 g (0.85 mmol) der Tricarbonsäure **11** in 60 mL dest. DMF gelöst und mit 1.52 mL dest. *N,N*-Diethylethanamin versetzt. Nach 5 Minuten wurden bei 0 °C 0.54 g (2.81 mmol) EDC·HCl und 0.38 g (2.81 mmol) HOBT dazugeben und 15 Minuten voraktiviert. Danach wurden 0.53 g (2.81 mmol) mono Boc-geschütztes- 1,4-Butadiamin **44** dazugegeben und 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in EtOAc aufgenommen und jeweils 3-mal mit wässriger, gesättigter NaHCO₃ und NaHSO₄-Lösung gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (EtOAc, 5% MeOH : EtOAc, 10% MeOH :EtOAc). Es konnten 0.33 g (0.387 mmol) eines farblosen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 46% entspricht.

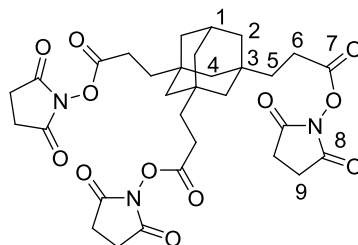
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.05-6.94 (m, 3H, 8-H), 5.27-5.19 (m, 3H, 13-H), 3.31-3.30 (m, 6H, 9-H), 3.20-2.17 (m, 6H, 12-H), 2.23-2.06 (m, 7H, 1-H, 6-H), 1.64-1.52 (m, 12H, 5-H, 11-H), 1.52-1.40 (m, 33H, 10-H, 16-H), 1.40-1.30 (m, 6H, 2-H), 1.21-1.03 (m, 6H, 4-H); **¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃):** δ [ppm] = 174.5 (C7), 156.6 (C14), 79.3 (C15), 46.6 (C4), 41.5 (C2), 40.5 (C12), 39.8 (C10), 39.5 (C9), 33.7 (C3), 30.6 (C6), 29.4 (C1), 28.2 (C16), 27.8 (C11), 27.1 (C5); **HRMS (ESI):** berechnet für C₄₆H₈₂N₆O₉Na⁺ [M+Na]⁺ 885.6035, gefunden = 885.6045; **IR (KBr-Pressling):** ν [cm⁻¹] = 3425 (w), 2918-2849 (w), 2416 (w), 1687 (w), 1536 (w), 1450 (w), 1391-1381 (m), 1271-1109 (w).

Adamantantriamin 46¹⁶⁰ $\text{C}_{31}\text{H}_{58}\text{N}_6\text{O}_3$, $M = 562.83 \text{ g/mol}$

0.16 g (0.19 mmol) des Boc-geschützten Triamins **45** wurden in 40 mL dest. CH_2Cl_2 gelöst, mit 15 mL TFA versetzt und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde danach dreimal mit der gleichen Menge an CH_2Cl_2 koevaporiert.

Es konnten 0.10 g (0.18 mmol) des entschützten Amins erhalten werden, was einer Ausbeute von 94% entspricht.

MS-ESI m/z (%): gefunden = 563.5 $[\text{M}+\text{H}]^+(20)$, 282.3 $[2\text{M}+\text{H}]^+(100)$.

1,3,5-[2- (NHS)-carboxyethyl]adamantan 48

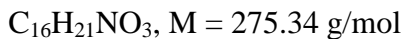
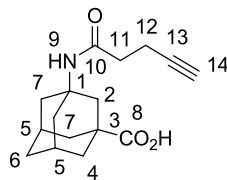
$C_{31}H_{37}N_3O_{12}$, $M = 643.64 \text{ g/mol}$

Zu einer Lösung von 1.00 g (2.84 mmol) der Tricarbonsäure **9** und 1.47g (12.78 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid in 50 mL abs. DMF wurden 2.45 g (12.78 mmol) EDC·HCl bei Raumtemperatur gegeben. Die Lösung wurde für 24 Stunden gerührt und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in EtOAc aufgenommen, dreimal mit H₂O gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (EtOAc: PE; 2:1, $R_f = 0.3$). Es konnten 1.24 g (1.92 mmol) eines farblosen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 68% entspricht.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2.80-2.77 (m, 12 H, 9-H), 2.57 (t, 6H, $^3J = 9.0 \text{ Hz}$, 6-H), 1.60 (t, 6H, $^3J = 8.0 \text{ Hz}$, 5-H), 1.37-1.29 (m, 6H, 2-H), 1.20 (d, 3 H, $^2J = 12.0 \text{ Hz}$, 4a-H), 1.14 (d, 3H, $^2J = 12.0 \text{ Hz}$, 4b-H); **¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃):** δ [ppm] = 169.5 (C7), 169.4 (C8), 45.5 (C4), 40.6 (C2), 37.4 (C5), 33.5 (C3), 31.6 (C6), 29.1 (C1), 25.6 (C9); **MS-ESI m/z (%):** gefunden = 666.3 [$M+Na$]⁺(100), 1309.9 [$2M+Na$]⁺(11).

6.7 Monovalente Adamantangerüste

1-(*N*-Pentylamido)-3-carboxyadamantan **51**

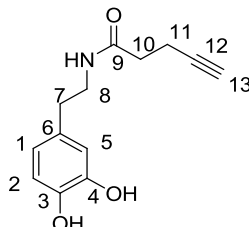


0.49 g (2.10 mmol) des 1-Amino-3carboxyadamantan Hydrochlorids **50** wurden in 30 mL dest. DMSO und 0.58 mL (4.10 mmol) *N,N*-Diethylethanamin gelöst, mit 0.54 g (2.74 mmol) des NHS-Ester-Alkins **24** vereint und die Lösung 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in 50 mL dest. H₂O aufgenommen und dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinten, organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Vollständigkeit der Reaktion wurde mittels ESI-MS überprüft.

MS-ESI m/z (%): gefunden = 274.1 [M-H]⁻ (100).

6.8 Dopaminderivat als Oberflächenbinder

1-(*N*-Pentylamido)-Dopamin **60**

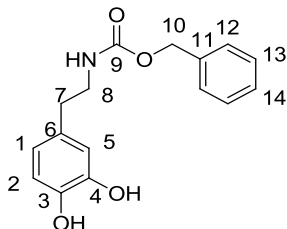


$\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_3$, $M = 233.26 \text{ g/mol}$

0.50 g (2.64 mmol) Dopamin-HCl **52** wurden in 30 mL dest. DMSO und 1.1 mL (7.92 mmol) *N,N*-Diethylethanamin gelöst, mit 0.67 g (3.43 mmol) des NHS-Ester Alkins **24** vereint und die Lösung 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde die Reaktionslösung bis zur Trockenheit eingedunstet, das Rohprodukt in 50 mL dest. H_2O aufgenommen und dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinten, organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und säulenchromatographisch gereinigt ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$, 95:5).

Es konnten 0.52 g (2.16 mmol) eines farblosen Öls erhalten werden, was einer Ausbeute von 85% entspricht.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 6.6-6.5 (aroma. Protonen, 3H), 3.31 (t, $^3J = 8 \text{ Hz}$, 2H, 8-H), 2.60 (t, $^3J = 8 \text{ Hz}$, 2H, 7-H), 2.43-2.39 (m, 2H, 10-H), 2.34-2.31 (m, 2H, 11-H), 2.23-2.21 (m, 1H, 13-H); **$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3):** δ [ppm] = 178.8 (C9), 146.0 (C3), 144.5 (C4), 131.9 (C6), 121.1 (C1), 116.8 (C5), 116.1 (C2), 83.4 (C12), 70.3 (C13), 42.2 (C8), 35.9 (C10), 34.1 (C7), 15.6 (C11); **MS-ESI m/z (%):** gefunden = 232.1 $[\text{M-H}]^-$ (70).

1-(N-Cbz)-Dopamin 61

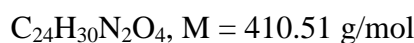
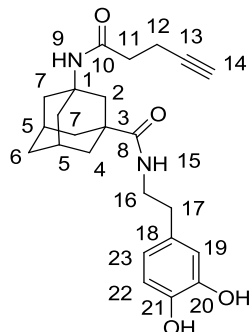
$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_4$, $M = 287.31 \text{ g/mol}$

3.01 g (15.90 mmol) Dopamin-HCl und 13.20 mL (95.20 mmol) *N,N*-Diethylethanamin wurden in 50 mL MeOH bei 0 °C gelöst. Dann wurden 6.50 mL (31.70 mmol) Cbz-Cl hinzugefügt und die Reaktionslösung für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 10 mL H₂O hinzugegeben und die Reaktionsmischung wurde viermal mit je 20 mL EtOAc extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingengt. Der daraus resultierende Feststoff wurde aus MeOH:Et₂O:PE (1:1:1) umkristallisiert und konnte mit einer Ausbeute von 3.71 g (12.9 mmol) und 81% erhalten werden.

$R_f = 0.54$ (CH₂Cl₂:MeOH, 90:10); **¹H-NMR (400 MHz, MeOH-d₄)**: δ [ppm] = 7.40-7.25 (m, 5H, aroma. Protonen), 6.70-6.40 (aromat Protonen, 3 H), 5.05 (s, 2 H, 10-H), 3.26 (t, ³ $J = 7.6$ Hz, 2H, 8-H), 2.62 (t, ³ $J = 6.8$ Hz, 2H, 7-H); **¹³C-NMR (100 MHz, MeOH-d₄)**: δ [ppm] = 158.8 (C9), 146.2 (C4), 144.7 (C3), 138.4 (C11), 132.0 (C6), 129.4 (C13), 128.9 (C14), 128.7 (C12), 121.1 (C1), 116.9 (C5), 116.3 (C2), 67.3 (C10), 43.7 (C8), 36.5 (C7); **MS-ESI m/z (%)**: gefunden = 310.1 [M+Na]⁺(50).

6.9 Dopaminderivat auf Adamantanbasis als Oberflächenbinder

1-(*N*-Pentylamido)-3-carboxy-dopamin-adamantan **62**

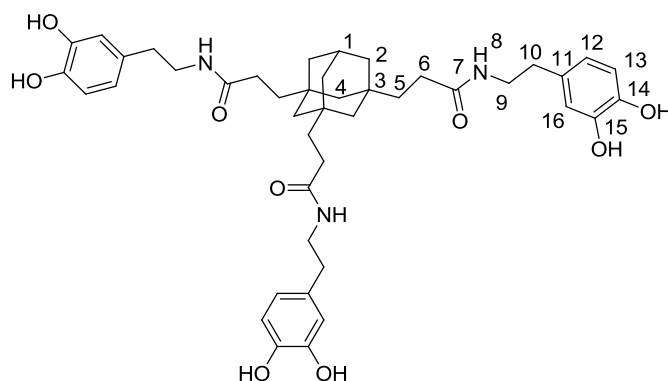


0.74 g (2.10 mmol) des Rohprodukts der Alkin-Tricarbonsäure **51** wurden in 30 mL dest. DMF gelöst und mit 1.17 mL (8.40 mmol) dest. *N,N*-Diethylethanamin versetzt. Nach 5 Minuten wurden bei 0 °C 0.52 g (2.73 mmol) EDC·HCl und 0.54 g (2.73 mmol) HOBt dazugeben und 5 Minuten voraktiviert. Danach wurden 0.52 g (2.73 mmol) Dopamin·HCl dazugegeben und 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in EtOAc aufgenommen, dreimal mit gesättigter, wässriger KHSO₄ Lösung gewaschen, erneut eingeeengt und säulenchromatographisch gereinigt. Es konnten 0.22 g Produkt (0.54 mmol) als farbloser Feststoff erhalten werden, was einer Ausbeute von 30% entspricht.

$R_f = 0.5$ (MeOH:CH₂Cl₂ 8%); **¹H-NMR (400 MHz, MeOH-d₄):** δ [ppm] = 7.30-7.28 (m, 1H, 9-H), 6.59 (d, 1H, ²*J* = 8.0 Hz, 22-H), 6.54-6.50 (m, 1H, 19-H), 6.42 (d, 1H, ²*J* = 8.0 Hz, 23-H), 3.22-3.20 (m, 2H, 17-H), 2.53 (t, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, 16-H), 2.32-2.30 (m, 2H, 11-H), 2.23-2.20 (m, 2H, 12-H), 2.17-2.14 (m, 1H, 14-H), 2.07-2.05 (m, 2H, 5-H), 1.98-1.98 (m, 2H, 2-H), 1.88-1.85 (m, 4H, 7-H), 1.66-1.64 (m, 4H, 4-H), 1.57-1.55 (m, 2H, 6-H); **¹³C-NMR (100 MHz, MeOH-d₄):** δ [ppm] = 179.5 (C8), 173.3 (C10), 146.3 (C21), 144.8 (C20), 132.4 (C18), 121.2 (C23), 117.0 (C19), 116.4 (C22), 70.3 (C14), 53.3 (C1), 41.4 (C17), 42.3 (C2), 39.2 (C7), 36.7 (C3), 36.4 (C4), 36.1 (C6, C11), 35.9 (C16), 30.7 (C5, C13), 15.8 (C12); **HRMS (ESI):** berechnet für C₂₄H₃₀N₂O₄Na⁺ [M+Na]⁺ = 433.2098, gefunden = 433.2081; **IR (KBr-Pressling):** ν [cm⁻¹] = 3427 (s), 2918-2855 (w), 1637 (m), 1527 (m), 1450-1114 (w).

6.10 Trivalentes Catechol auf Adamantanbasis als Oberflächenbinder

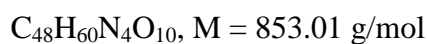
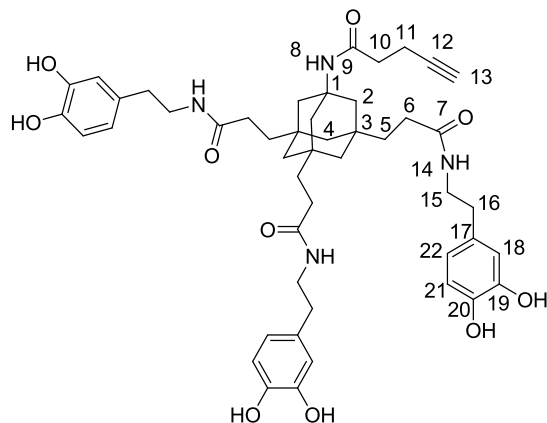
Adamantantriscatechol 53 ¹⁶¹



$C_{43}H_{55}N_3O_9$, $M = 757.91$ g/mol

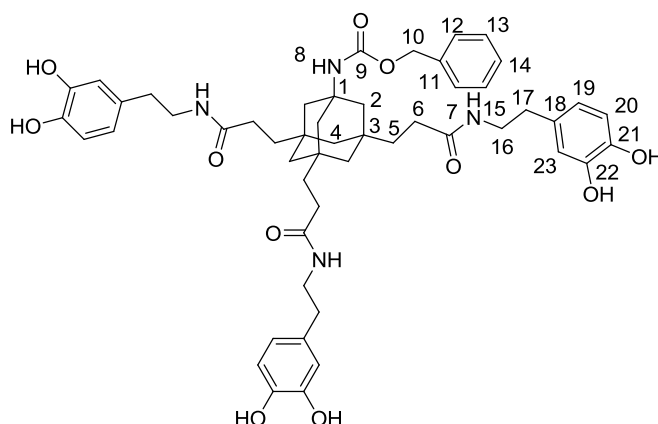
0.50 g (1.42 mmol) der Tricarbonsäure **11** wurden in 60 mL dest. DMF gelöst und mit 2.54 mL dest. *N,N*-Diethylethanamin versetzt. Nach 5 Minuten wurden bei 0 °C 0.90 g (4.69 mmol) EDC·HCl und 9.38 mL (4.69 mmol) HOBt dazugeben und 30 Minuten voraktiviert. Danach wurden 0.89 g (4.69 mmol) Dopamin·HCl dazugegeben und 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in EtOAc aufgenommen, dreimal mit gesättigter, wässriger $KHSO_4$ Lösung gewaschen, erneut eingengt, in Et_2O suspendiert und abdekantiert. Es konnten 0.69 g Produkt (0.91 mmol) als leicht beiger Feststoff erhalten werden, was einer Ausbeute von 80% entspricht.

1H -NMR (400 MHz, $MeOH-d_4$): δ [ppm] = 6.65 (d, 3H, $^2J = 8.0$ Hz, 13-H), 6.51-6.49 (m, 3H, 16-H), 6.28 (d, 3H, $^2J = 8.0$ Hz, 12-H), 3.30-3.28 (m, 6 H, 10-H), 2.55 (t, 6 H, $^3J = 8.0$, 9-H), 2.10 (t, 6H, $^3J = 8.0$ Hz, 6-H), 1.88 (s, 1H, 1-H), 1.35-1.31 (m, 12H, 2,5-H), 1.10-1.08 (m 6H, 4-H); **^{13}C -NMR (100 MHz, $MeOH-d_4$):** δ [ppm] = 177.1 (C7), 146.2 (C14), 144.7 (C15), 131.9 (C9), 129.5 (C11), 121.0 (C12), 116.9 (C16), 116.3 (C13), 54.88 (C1), 47.3 (C4), 42.2 (C2), 41.9 (C19), 38.00 (C5), 35.8 (C3), 34.5 (C10), 31.1 (C6); **HRMS (ESI):** berechnet für $C_{43}H_{54}N_3O_9^-$ $[M-H]^- = 756.3866$, gefunden = 756.3862; **IR (KBr-Pressling):** ν [cm^{-1}] = 3337 (s), 2906-2844 (m), 1626 (s), 1527 (s), 1450 (m), 1359 (m), 1283-1197 (s), 1151-1115 (w).

1-(*N*-Pentylalkin)-amino-adamantantriscatechol **54**¹⁶¹

0.50 g (1.23 mmol) Rohprodukt der Alkin-Tricarbonsäure **25** wurden in 60 mL dest. DMF gelöst und mit 0.90 mL dest. *N,N*-Diethylethanamin versetzt. Nach 5 Minuten wurden bei 0 °C 0.41 g (2.05 mmol) EDC und 0.28 g (2.05 mmol) HOBt dazugegeben und 5 Minuten voraktiviert. Danach wurden 0.39 g (2.05 mmol) Dopamin-HCl dazugegeben und die Lösung 72 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in EtOAc aufgenommen, dreimal mit gesättigter, wässriger KHSO_4 Lösung gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet, erneut eingeeengt und in Et_2O suspendiert. Es konnten 0.28 g (0.33 mmol) eines farblosen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 53% entspricht.

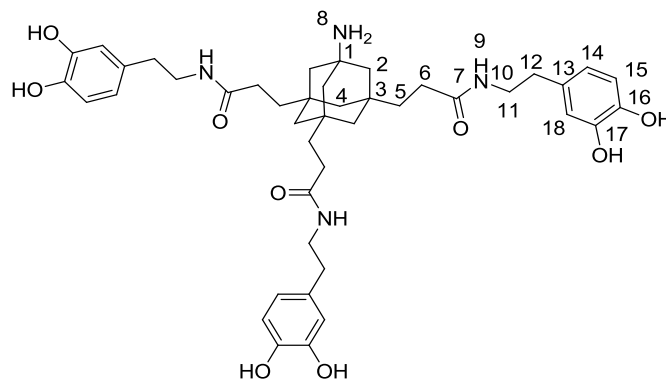
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOH-d_4): δ [ppm] = 6.65 (d, 3H, $^2J = 8.0$ Hz, 21-H), 6.61-6.60 (m, 3H, 18-H), 6.50 (d, 3H, $^2J = 8.0$ Hz, 22-H), 3.32-3.27 (m, 6 H, 15-H), 2.60 (t, 6H, $^2J = 8.0$ Hz, 16-H), 2.39-2.35 (m, 2 H, 10-H), 2.29-2.23 (m, 2 H, 11-H), 2.11-2.07 (m, 7H, 6-H, 13-H), 1.58 (m, 6H, 5-H), 1.43-1.39 (m, 6H, 2-H), 1.12 (dd, $^2J = 12.0$ Hz, 3H, 4a-H), 1.03 (dd, $^2J = 12.0$ Hz, 3H, 4b-H); **$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOH-d_4):** δ [ppm] = 176.8 (C7), 173.3 (C9), 146.3 (C20), 144.8 (C19), 132.0 (C17), 121.1 (C22), 116.9 (C18), 116.4 (C21), 79.3 (C12), 67.2 (C13), 49.9 (C1), 46.3 (C4), 45.6 (C5), 42.3 (C15), 40.2 (C2), 36.8 (C3), 36.1 (C10), 35.8 (C16), 31.2 (C6), 15.8 (C11); **HRMS-ESI:** berechnet $\text{C}_{48}\text{H}_{59}\text{N}_4\text{O}_{10}^-$ (M-H) $^-$ = 851.4237 gefunden = 851.4212.

1-(N-Cbz)-amino-adamantantriscatechol 55¹⁶¹

$C_{51}H_{62}N_4O_{11}$, $M = 907.66 \text{ g/mol}$

Zu 50 mg (0.1 mmol) der geschützten Adamantancarbonsäure in 30 mL abs. DMF wurden bei 0 °C 0.22 mL (1.28 mmol) DIPEA zugegeben und für 10 Minuten gerührt. Danach wurden nacheinander 63 mg (0.33 mmol) EDC·HCl und 44 mg (0.33 mmol) HOBt zugegeben und zur Voraktivierung 20 Minuten gerührt. Nach dieser Zeit wurden 62 mg (0.33 mmol) Dopamin·HCl hinzugegeben und bei Raumtemperatur 3 Tage gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, in 30 mL EtOAc und 5 mL wässriger 1 M HCl aufgenommen und mit derselben Menge einer wässrigen, gesättigten $KHSO_4$ -Lösung dreimal gewaschen. Nach dem Trocknen über Na_2SO_4 wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Mittels Gefriertrocknung konnte ein beigefarbener Feststoff erhalten werden, der in je 100 mL Et_2O sechsmal bei 30 °C im Wasserbad suspendiert und abdekantiert wurde. Dadurch konnte ein beige- gefärbter Feststoff von 43 mg (0.05 mmol) erhalten werden, was einer Ausbeute von 84% entspricht.

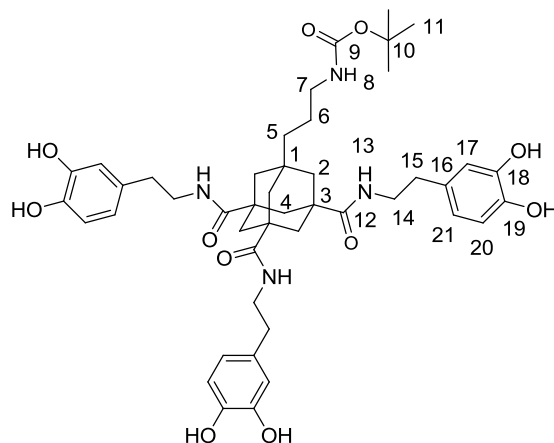
1H -NMR (400 MHz, MeOH- d_4): δ [ppm] = 7.17-7.15 (m, 5H, 12-14-H), 6.54 (d, 3H, $^2J = 8$ Hz, 20-H), 6.50-6.48 (m, 3H, 23-H), 6.38 (d, 3H, $^2J = 8.0$ Hz, 19-H), 4.84 (s, 2H, 10-H), 3.18 (m, 6H, 16-H), 2.49 (t, $^3J = 7.2$ Hz, 6H, 17-H), 1.97 (t, $^3J = 7.6$ Hz, 6H, 6-H), 1.39 (s, 6H, 2-H), 1.28 (t, $^3J = 7.6$ Hz, 6H, 5-H), 0.97 (d, $^2J = 12.0$ Hz, 3H, 4a-H), 0.88 (d, $^2J = 12.0$ Hz, 3H, 4b-H); **^{13}C -NMR (100 MHz, MeOH- d_4):** δ [ppm] = 176.8 (C7), 156.7 (C9), 146.2 (C21), 144.7 (C22), 138.4 (C11), 131.9 (C18), 128.7, 128.8, 129.4 (C12-C14), 121.0 (C19), 116.9 (C23), 116.3 (C20), 66.8 (C10), 53.7 (C1), 46.3 (C4), 45.8 (C2), 42.2 (C16), 40.0 (C5), 36.0 (C3), 35.8 (C17), 31.1 (C6); **HRMS-ESI:** berechnet $C_{51}H_{62}N_4O_{11}Na^+$ $[M+Na]^+ = 929.4307$ gefunden = 929.4314; **IR (KBr-Pressling):** ν [cm^{-1}] = 3412 (s), 2918 (w), 1633 (m), 1527 (m), 1454-1026 (w).

1-Amino-adamantanetriscatechol **56**¹⁶¹

$$\text{C}_{43}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_9, M = 772.93 \text{ g/mol}$$

43 mg (0.05 mmol) der zu entschützenden bzw. zu hydrierenden Substanz **55** wurde unter N_2 -Atmosphäre in destilliertem MeOH gelöst und mit einer katalytischen Menge Pd/C (Spatelspitze) versetzt. Die Suspension wurde entgast und bis zur vollständigen Reaktion unter H_2 -Atmosphäre für 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung filtriert, mehrmals mit destilliertem MeOH gespült und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Es konnten 30 mg (0.04 mmol) eines hellgelben Öls erhalten werden, was einer Ausbeute von 82% entspricht.

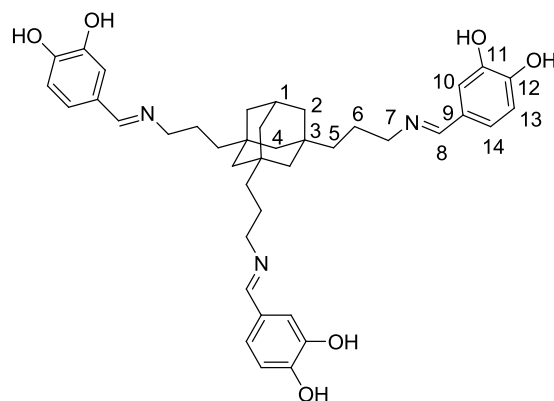
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOH- d_4): δ [ppm] = 6.64 (d, 3H, $^2J = 8.0$ Hz, 15-H), 6.60-6.58 (m, 3H, 18-H), 6.48 (d, 3H, $^2J = 8.0$ Hz, 14-H), 3.22-3.20 (m, 6H, 11-H), 2.59 (t, $^3J = 7.0$ Hz, 6H, 12-H), 2.08 (t, $^3J = 7.8$ Hz, 6H, 6-H), 1.42-1.38 (m, 12H, 2-H, 5-H), 1.08-1.06 (m, 6H, 4-H); **$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOH- d_4):** δ [ppm] = 176.42 (C7), 146.21 (C16), 144.79 (C17), 132.02 (C13), 121.12 (C14), 117.05 (C18), 116.42 (C15), 54.88 (C1), 45.33 (C4), 44.95 (C2), 42.24 (C11), 49.57 (C5), 36.39 (C3), 35.80 (C12), 31.05 (C6); **HRMS-ESI:** berechnet $\text{C}_{43}\text{H}_{57}\text{N}_4\text{O}_9^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 773.4120$ gefunden = 773.4120; **IR (Film):** ν [cm^{-1}] = 3416 (s), 2926-1853 (w), 1632 (s), 1556 (m), 1454-1117 (w).

1-(*N*-Boc)-amino-adamantantriscatechol **58**¹⁶⁰

$\text{C}_{45}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_{11}$, $M = 830.96 \text{ g/mol}$

Zu einer Lösung von 0.10 g (0.24 mmol) der geschützten Adamantancarbonsäure **57** in 30 mL abs. DMF wurden bei 0 °C 0.39 mL (2.82 mmol) *N,N*-Diethylethanamin gegeben und für 5 Minuten gerührt. Danach wurden nacheinander 0.21 g (1.06 mmol) EDC·HCl und 0.14 g (1.06 mmol) HOBt zugegeben und zur Voraktivierung 5 Minuten gerührt. Nach dieser Zeit wurden 0.20 g (1.06 mmol) Dopamin·HCl hinzugegeben und bei Raumtemperatur 3 Tage gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, in 30 mL EtOAc und 5 mL 1 M wässrige HCl aufgenommen und mit derselben Menge einer wässrigen gesättigten KHSO_4 -Lösung dreimal gewaschen. Nach dem Trocknen mit Na_2SO_4 wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Mittels Gefriertrocknung konnte ein farbloser Feststoff erhalten werden, der in 100 mL Et_2O sechsmal bei 30 °C im Wasserbad suspendiert und abdekantiert wurde. Es konnten 99 mg (0.12 mmol) eines farblosen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 51% entspricht.

^1H -NMR (400 MHz, MeOH-d_4): δ [ppm] = 7.74-7.72 (m, 3H, 13-H), 6.63-6.60 (m, 3H, 20-H), 6.59-6.57 (m, 4H, 8-H, 17-H), 6.47-6.39 (m, 3H, 21-H), 3.31-3.29 (m, 6H, 14-H), 2.91-2.90 (m, 2H, 7-H), 2.60-2.57 (m, 6H, 15-H), 1.70-1.68 (m, 6H, 4-H), 1.40-1.35 (m, 17H, 2-H, 6-H, 11-H), 1.14-1.12 (m, 2H, 5-H); **^{13}C -NMR (100 MHz, MeOH-d_4):** δ [ppm] = 178.9 (C12), 146.2 (C19), 144.8 (C18), 132.4 (C16), 121.2 (C21), 117.1 (C17), 116.3 (C20), 80.0 (C10), 43.4 (C7), 42.3 (C2), 40.7 (C5), 39.4 (C4), 35.8 (C14), 35.1 (C1), 24.2 (C11), 12.8 (C6); **HRMS (ESI):** berechnet für $\text{C}_{45}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{Na}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 853.3994$, gefunden = 853.3992; **IR (KBr-Pressling):** ν [cm^{-1}] = 3374 (s), 2936 (w), 1633 (s), 1526 (s), 1366 (m), 1285 (m), 1285 (s), 1196-1046 (m).

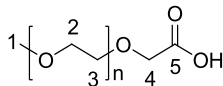
Adamantantriscatechol 59¹⁶⁰ $C_{40}H_{49}N_3O_6$, $M = 667.83$ g/mol

50 mg (0.16 mmol) des Triamins **35** wurden in 10 mL abs. EtOH vorgelegt, zudem langsam 69 mg (0.49 mmol) 3,4-Dihydroxybenzaldehyd in wenig abs. EtOH gelöst, dazu getropft wurde. Unter Schutzgasatmosphäre wurde die Reaktionslösung bei Raumtemperatur 24 Stunden gerührt. Der Feststoff wurde daraufhin mittels Zentrifuge von dem Lösungsmittel abgetrennt, vorsichtig mit kaltem Et₂O und wenig EtOH gewaschen und im Vakuum getrocknet. Es konnten 0.10 g (0.15 mmol) eines dunkel roten Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 100% entspricht.

¹H-NMR (400 MHz, MeOH-d₄): δ [ppm] = 8.05-8.02 (m, 3H, 8-H), 7.16-7.14 (m, 3H, 13-H), 6.92-6.89 (m, 3H, 10-H), 6.72-6.69 (m, 3H, 14-H), 1.50-1.48 (m, 6H, 6-H), 1.29-1.27 (m, 6H, 5-H), 1.08-1.05 (m, 18H, 2-H, 4-H, 5-H); **HRMS (ESI):** berechnet für $C_{40}H_{50}N_3O_6^+$ $[M+H]^+ = 668.3694$, gefunden = 668.3691; **IR (KBr-Pressling):** ν [cm⁻¹] = 3410 (s), 2901-2842 (s), 1583 (s), 1450 (s), 1383 (s), 1285 (s), 1116 (w), 816 (w).

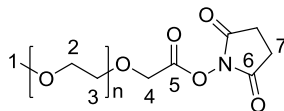
6.11 Poly(ethylen glycol) PEG

PEG-CO₂H 64



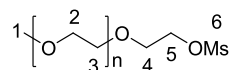
25.0 g (5.0 mmol) mPEG-OH **63** (MW 5000) und 7.0 g (0.13 mmol) KOH wurden in 125 mL Wasser gelöst, 2.37 g (15.0 mmol) KMnO₄ hinzugefügt und die Reaktionslösung bei Raumtemperatur für 12 Stunden gerührt. Am nächsten Tag wurde die Suspension über Celite filtriert und mit 22 mL konz. HCl versehen. Das Produkt wurde sechsmal mit 20 mL CHCl₃ extrahiert, anschließend über MgSO₄ getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum eingeeengt und das Produkt mit 40 mL Et₂O in der Kälte gefällt. Der ausgefallene, farblose Feststoff wurde filtriert und im Vakuum getrocknet. Somit konnten 22.76 g (4.55 mmol) des Produktes erhalten werden, was einer Ausbeute von 91% entspricht.

$R_f = 0.105$ (UV, CHCl₃:MeOH, 92:8); **¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃):** δ [ppm] = 4.03 (s, 2H, 4-H), 3.67-3.24 (m, n·4H, 2-H, 3-H), 3.28 (s, 3H, 1-H); **¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃):** δ [ppm] = 171.4 (C5), 72.6 (-O-CH₂-), 71.8 (-O-CH₂-), 70.6 (-O-CH₂-), 70.4 (-O-CH₂-), 70.2 (-O-CH₂-), 70.0 (-O-CH₂-), 68.7 (C4), 61.3 (n·C2, n·C3), 58.9 (C1); **MALDI-ToF-MS m/z (%):** 5051.3 (100) [M+H]⁺; **IR (KBr Pressling):** ν [cm⁻¹] = 2887 (s), 1746 (w), 1467-1454 (s), 1359-1342 (s), 1279 (s), 1241 (s), 1149-1059 (s).

PEG-NHS 65

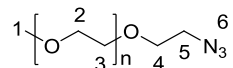
10.0 g (2.00 mmol) der Verbindung **64** wurden in 70 mL CH_2Cl_2 gelöst und mit 0.62 g (3.00 mmol) DCC und 0.346 g (3.00 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid versehen. Die Suspension wurde für 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und das entstandene DCU über Celite filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum eingengt und das Produkt mit 30 mL Et_2O in der Kälte gefällt. Das Produkt wurde filtriert und im Vakuum getrocknet. Trotz zweifacher Umsetzung des Eduktes konnte das gewünschte Produkt im Verhältnis 2:1 Teilen Edukt, mit leichten Verunreinigungen, erhalten werden.

$R_f = 2.4$ (UV, $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$, 85:15); **$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3):** δ [ppm] = 4.44 (s, 2H, 4-H), 3.72-3.39 (m, n·4H, 2-H, 3-H), 3.29 (s, 3H, 1-H), 2.78 (s, 4H, 7-H); **$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3):** δ [ppm] = 171.9 (C5), 165.9 (C6), 71.8 (-O-CH₂-), 71.2 (-O-CH₂-), 70.5(-O-CH₂-), 68.8(-O-CH₂-), 68.7(-O-CH₂-), 68.4 (-O-CH₂-), 66.4 (C4), 58.9 (C1), 25.5 (C7); **IR (KBr Pressling):** ν [cm^{-1}] = 2888 (s), 1779 (w), 1780 (s), 1626-1536 (w), 1466-1451 (m), 1359-1324 (s), 1280-1060 (s).

PEG-OMs 66

10.0 g (2 mmol) PEG-OH **63** wurden in 120 mL CH₂Cl₂ gelöst, mit 1.11 mL (8.00 mmol) *N,N*-Diethylethanamin und 0.54 mL (7 mmol) Methansulfonylchlorid versehen und 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in 10 mL H₂O aufgenommen und fünfmal mit 10 mL CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Na₂SO₄ getrocknet, das Lösungsmittel wurde im Vakuum eingeeengt und das Produkt mit 30 mL Et₂O in der Kälte gefällt. Der ausgefallene, farblose Feststoff wurde filtriert und im Vakuum getrocknet. Somit konnten 9.15 g (1.80 mmol) des Produktes erhalten werden, was einer Ausbeute von 90% entspricht.

R_f = 0.75 (UV, CHCl₃:MeOH, 80:20); **¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃):** δ [ppm] = 4.31-4.26 (m, 2 H, 5-H), 3.70-3.44 (m, n·6 H, 2-H, 3-H, 4-H), 3.30 (s, 3H, 1-H), 3.01 (s, 3H, 6-H); **¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃):** δ [ppm] = 71.8 (-O-CH₂-), 70.5 (-O-CH₂-), 69.3 (-O-CH₂-), 68.9 (-O-CH₂-), 59.0 (C1), 45.9 (C6); **IR (KBr Pressling):** ν [cm⁻¹] = 2885 (s) 1467 (s), 1359-1342 (s), 1280 (s), 1241 (s), 1148-1059 (s).

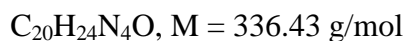
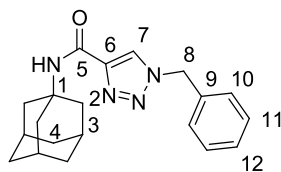
PEG-Azid 67

9.05 g (1.78 mmol) PEG-Ms **66** wurden in 100 mL CH_2Cl_2 gelöst und mit 0.27 g (4.50 mmol) NaN_3 versehen. Die Reaktionsmischung wurde bei 60 °C für 6 Stunden gerührt. Mit jeweils 15 mL wässriger, gesättigter NaCl Lösung wurde die Reaktionslösung fünfmal gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Dabei konnten 6.8 g (1.40 mmol) eines farblosen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 76% entspricht.

$R_f = 0.51$ (CHCl_3 :MeOH, 85:15); $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 3.70-3.44 (m, n·4H, 2-H, 3-H), 3.30 (s, 3H, 1-H); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 71.9 (-O-CH₂-), 70.5 (-O-CH₂-), 70.0 (-O-CH₂-), 68.7 (-O-CH₂-), 63.3 (-O-CH₂-), 50.6 (n·C2, n·C3), 58.9 (C1); **IR (KBr Pressling)**: ν [cm^{-1}] = 2886 (s); 2102 (w), 1466-1454 (s), 1359-1342 (s), 1279 (s), 1241 (s), 1149-1059 (s).

6.12 Klick-Reaktionen

Adamantan-Derivat 70



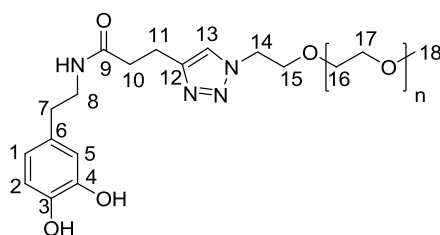
20 mg (0.098 mmol) Mono-Acetal-Adamantan und 12 μL (0.098 mmol) Benzylazid wurden in 3 mL DMF gelöst und mit einer Spatelspitze CuSO_4 (0.1 äq.) und Natriumascorbat (0.1 äq.) versehen. Die Lösung wurde 30 Minuten in der Mikrowelle (volle Wattleistung) bei 100 °C und weitere 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in EtOAc aufgenommen, dreimal mit wässriger 1 M EDTA-Lösung gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und erneut das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Es konnten 32 mg (0.098 mmol) eines braunen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 100% entspricht.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.90 (s, 1H, 7-H), 7.28-7.19 (m, 5H, 10-12-H), 5.46 (s, 2H, 8-H), 2.10-1.90 (m, 9H, 2-H, 3-H), 1.73-1.58 (m, 6H, 4-H); **$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3):** δ [ppm] = 134.0 (C5), 129.3 (C10), 129.1 (C11), 128.3 (C12), 54.7 (C8), 52.3 (C1), 41.7 (C2), 36.4 (C4), 29.5 (C3), **HRMS (ESI):** berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 337.2023$, gefunden = 337.2027; **IR (KBr-Pressling):** ν [cm^{-1}] = 3288 (w), 3114-3066 (w), 2962-2847 (s), 1647 (s), 1570 (s), 1513 (m), 1456 (m), 1360 (m), 1308-1246 (s), 1090-1017 (s), 804 (s), 724-695 (m).

6.13 Verknüpfung der PEG-Derivate mittels Klick-Reaktion und NHS-Ester Kupplung

6.13.1 Klick-Reaktion

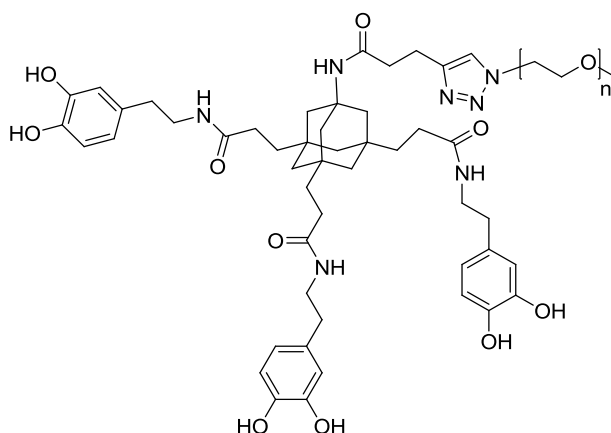
1-(*N*-PEG)-Dopamin 71



20.0 g (0.086 mmol) des *N*-(3,4-Dihydroxyphenethyl)pent-4-inamid **60** und 0.56 g (0.11 mmol) PEG-Azid **67** wurden nach Vorschrift (siehe Derivat **70**) umgesetzt.

Es konnten 0.45 g (0.08 mmol) eines farblosen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 100% entspricht.

R_f = 0.43 (CHCl₃:MeOH, 85:15); **¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃):** δ [ppm] = 7.65 (s, 1H, 13-H), 6.50-6.93 (aromat. Protonen 3H), 4.48 (m, 2H, 14-H), 3.45-3.70 (m, n·4H, 16-H, 17-H), 3.33 (m, n·4H, 8-H, n·16H oder 17H), 3.32 (s, n·5H, 18-H, n·16H oder 17H), 3.00 (m, 2H, 8-H), 2.55-2.57 (m, 4H, 7-H, 11-H); **¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃):** δ [ppm] = 144.4 (C4), 143.2 (C3), 130.8 (C6), 120.3 (C13), 116.1 (C1), 115.5 (C5), 72.6 (C2), 72.3 (-O-CH₂-), 71.0 (-O-CH₂-), 70.5 (-O-CH₂-), 70.0 (-O-CH₂-), 69.1 (-O-CH₂-), 60.0 (C18), 40.8 (C8), 35.1 (C10), 34.7 (C7), 21.0 (C11); **MALDI-ToF-MS m/z (%):** 5292.6 (99) [M+H]⁺; **IR (KBr Pressling):** ν [cm⁻¹] = 3460 (s), 2885 (s), 1650 (w), 1469 (s), 1345 (s), 1281-1049 (s), 1116 (s), 959 (s), 842 (s).

1-(N-PEG)-amino-adamantanetriscatechol 72

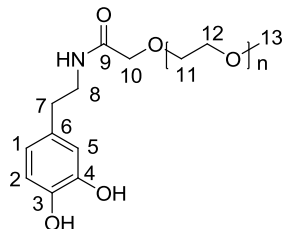
20 mg (0.02 mmol) des Alkin funktionalisierten Triscatechols **54** und 0.174 g (0.04 mmol) PEG-Azid **67** wurden nach Vorschrift (AVV4) umgesetzt. Es konnten 0.13 g (0.02 mmol) eines farblosen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 94% entspricht.

Aufgrund der Komplexität des Moleküls konnten die NMR Daten nicht ausgewertet werden.

MALDI-ToF-MS m/z (%): 5912.8 (86) $[M+H]^+$; **IR (KBr Pressling):** ν [cm^{-1}] = 3258 (m), 2880 (s), 1731 (w), 1650 (m), 1527 (m), 1466 (s), 1359-1342 (s), 1280-1241 (s), 1091 (s), 962 (s), 841-802 (s).

6.13.2 NHS-Ester Kupplung

1-(*N*-PEG)-Dopamin **68**

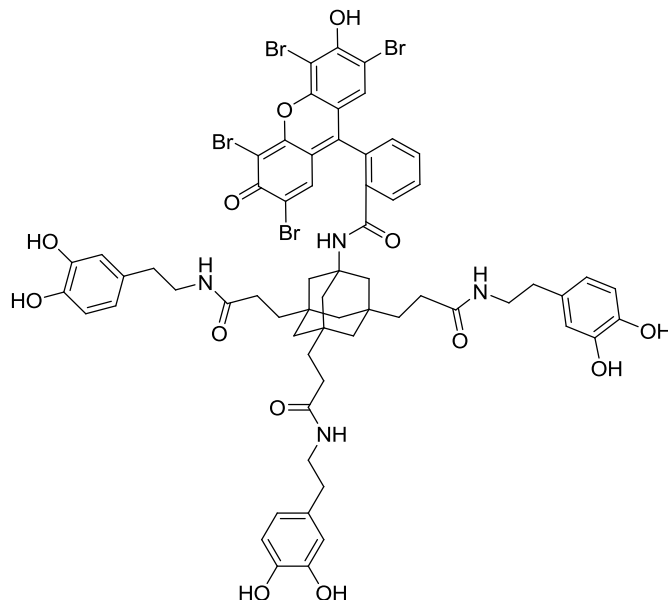


0.10 g (0.53 mmol) Dopamin·HCl **52** und 92 mg (0.91 mmol) *N*-Methylmorpholin wurden in 20 mL EtOH gelöst. Separat wurde 1.34 g (0.62 mmol) PEG-NHS Ester **65** in 10 mL CHCl₃ gelöst, miteinander vereint und bei Raumtemperatur für 12 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in 40 mL CH₂Cl₂ aufgenommen und mit 10 mL H₂O vorsichtig gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum eingengt und das Produkt mit 30 mL Et₂O in der Kälte gefällt. Der ausgefallene farblose Feststoff wurde filtriert und im Vakuum getrocknet. Das gewünschte Produkt konnte im Verhältnis 4:1 Teile Produkt / Edukt erhalten werden.

R_f = 0.45 (CHCl₃:MeOH, 85:15); **¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃):** δ [ppm] = 6.74-6.50 (aromat. Protonen 3H), 4.07 (s, 2H, 10-H), 3.70-3.41 (m, n·4H, 11-H, 12-H), 3.31 (s, 3H, 13-H), 2.64 (t, 3J = 7.2 Hz, 2 H, 7-H); **¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃):** δ [ppm] = 157.2 (C9), 144.6 (C4), 143.2 (C3), 130.7 (C6), 116.0 (C5), 115.7 (C2), 72.3 (-O-CH₂-), 71.9(-O-CH₂-), 70.9 (-O-CH₂-), 70.8 (-O-CH₂-), 70.5 (-O-CH₂-), 70.1 (-O-CH₂-), 68.9 (-O-CH₂-), 68.7 (-O-CH₂-), 68.4 (-O-CH₂-), 63.7 (-O-CH₂-), 63.3 (-O-CH₂-), 59.0 (C13), 40.1 (C8), 34.8 (C7); **MALDI-ToF-MS m/z (%):** 5226.5 (85) [M+H]⁺; **IR (KBr Pressling):** ν [cm⁻¹] = 3458 (s), 2881 (s), 1630 (w), 1468 (s), 1345 (s), 1281-1241 (s), 1116 (s), 959 (s), 842 (s).

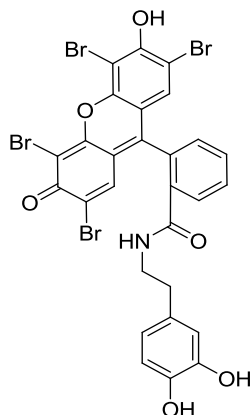
Aufgrund der Komplexität des Spektrums konnten weitere Peaks nicht zugeordnet werden.

6.13.3 Farbstoffmarkeirte Admamantanderivate

1-(*N*-Eosin)-amino-adamantantriscatechol **73** ¹⁶¹

7.2 mg (0.001 mmol) Eosin-Di-Natrium wurden in 10 mL dest. DMF gelöst und mit 4 Tropfen dest. *N,N*-Diethylethanamin versetzt. Nach 5 Minuten wurden bei 0 °C 1.9 mg (0.01 mmol) EDC·HCl und 1.4 mg (0.01 mmol) HOBt dazugeben und 5 Minuten voraktiviert, 6.2 mg (0.01 mmol) Amintriscatechol **56** dazugegeben und die Lösung 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und mittels ESI-MS die Vollständigkeit der Reaktion überprüft. Das Rohprodukt wurde in 20 mL EtOAc aufgenommen, dreimal mit 20 mL wässriger, gesättigter KHSO₄-Lösung gewaschen, die vereinten, organischen Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

MALDI-ToF-MS m/z (%): 1481.0 (100) [M+Br]⁻, **IR (KBr Pressling):** ν [cm⁻¹] = 3418 (w), 2962-2854 (m), 1717-1356 (w), 1261 (s), 1098-1022 (s), 866 (w), 802 (s).

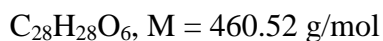
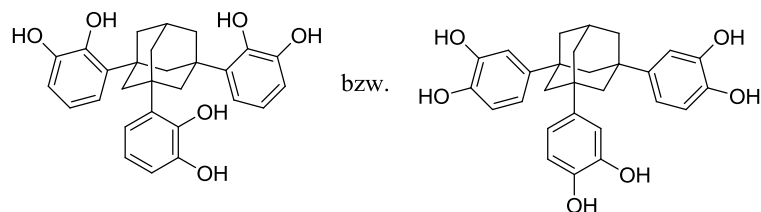
1-(*N*-Eosin)-Dopamin 74 $\text{C}_{28}\text{H}_{17}\text{Br}_4\text{NO}_6$, $M = 783.05 \text{ g/mol}$

0.11 g (0.16 mmol) Eosin-Di-Natrium wurden in 10 mL dest. DMF gelöst und mit 58 μL (0.42 mmol) dest. *N,N*-Diethylethanamin versetzt. Nach 5 Minuten wurden bei 0 °C 0.30 g (0.16 mmol) EDC·HCl und 0.21 g (0.16 mmol) HOBt dazugeben und 5 Minuten voraktiviert. Danach wurden 0.20 g (0.11 mmol) Dopamin·HCl dazugegeben und die Lösung 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und mittels ESI-MS die Vollständigkeit der Reaktion überprüft. Das Rohprodukt wurde in 50 mL EtOAc aufgenommen, dreimal mit 50 mL wässriger, gesättigter KHSO_4 -Lösung gewaschen, die vereinten, organischen Phasen mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

MS-ESI m/z (%): gefunden = 779.7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (70); **IR (KBr Pressling):** ν [cm^{-1}] = 3431 (m), 2963 (w), 1634-1339 (w), 1110 (s), 803 (w).

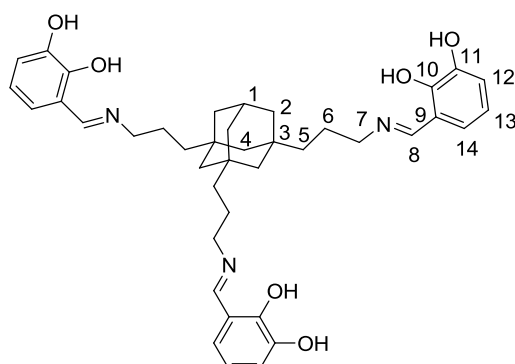
6.14 Trivalente Catecholderivate auf Adamantanbasis als Metallchelatoren

Adamantantriscatechol 78 und 79



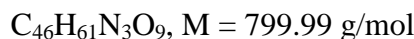
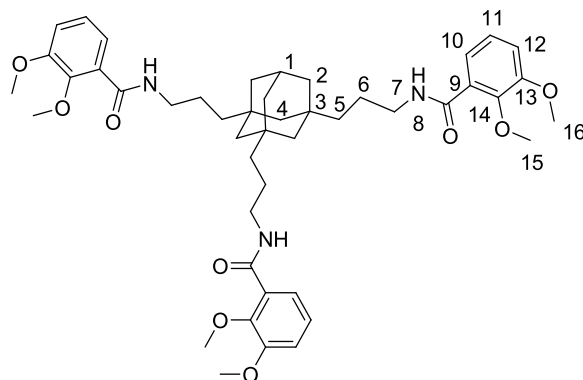
0.10 g (0.53 mmol) des 1,3,5-Trihydroxyadamantans **47** wurden mit 0.27 g (2.44 mmol) 1,2-Dihydroxybenzol und 50 mL TFA versehen und bei 85 °C für 24 Stunden erhitzt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde versucht das Produkt mittels präoperativer Dünnschichtchromatographie (CH_2Cl_2 :MeOH, 8:2) zu reinigen. Leider konnte auf Grund der Polarität sowohl des Produkts als auch des Diphenols keine vollständige Trennung erreicht werden. An Hand des ESI-MS ist dennoch ein vollständiger Umsatz zu erkennen.

$R_f = 0.8$ (CH_2Cl_2 :MeOH 20%), **HRMS (ESI)**: berechnet für $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{O}_6\text{Na}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 483.1778$, gefunden = 483.1777.

Adamantantriscatechol 80¹⁶⁰ $C_{40}H_{49}N_3O_6$, $M = 667.83$ g/mol

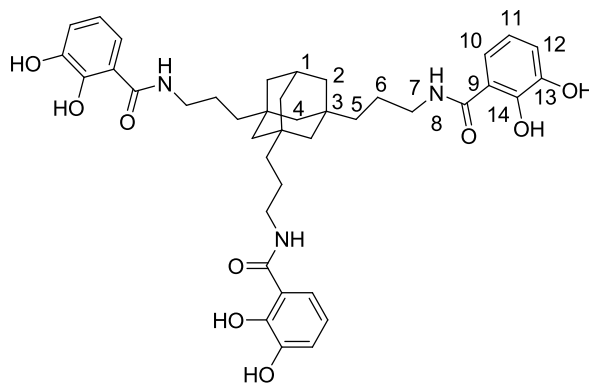
50 mg (0.16 mmol) des *Triamins* **35** wurden in 10 mL abs. EtOH vorgelegt, zudem langsam 69 mg (0.49 mmol) 2,3-Dihydroxybenzaldehyd in wenig abs. EtOH gelöst, zugetropft wurde. Unter Schutzgasatmosphäre wurde die Reaktionslösung bei Raumtemperatur 24 Stunden gerührt, der Feststoff wurde daraufhin mittels Zentrifuge von dem Lösungsmittel abgetrennt, vorsichtig mit kaltem Et₂O und wenig EtOH gewaschen und im Vakuum getrocknet. Es konnten 0.10 g (0.15 mmol) eines braungelben Feststoffs erhalten werden, was eine Ausbeute von 99% bedeutet.

¹H-NMR (400 MHz, MeOH-d₄): δ [ppm] = 8.47-8.44 (m, 3H, 8-H), 6.80-6.75 (m, 6H, 10-H, 11-H), 6.59-6.50 (m, 3H, 12-H), 3.53-3.50 (m, 6H, 7-H), 1.57-1.50 (m, 6H, 6-H), 1.31-1.29 (m, 6H, 5-H), 1.13-1.10 (m, 18H, 2-H, 4-H, 5-H); **HRMS (ESI):** berechnet für $C_{40}H_{50}N_3O_6^+$ $[M+H]^+ = 668.3694$, gefunden = 668.3691.

Adamantanmethoxytriscatechol 83

0.10 g (0.33 mmol) des *Triamins* **35** wurden in 20 mL abs. DMF gelöst und mit 405 μL (2.93 mmol) abs. *N,N*-Diethylethanamin versetzt. Nach 2 Minuten wurden bei 0 °C 0.54 g (2.93 mmol) 2,3-Dimethoxybenzoesäurechlorid **82** gelöst in wenig abs. DMF langsam dazu getropft und für 2 Tage gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in 50 mL H_2O aufgenommen und dreimal mit 40 mL CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinten, organischen Phasen wurden mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnten 91 mg (0.11 mmol) eines farblosen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 35% entspricht.

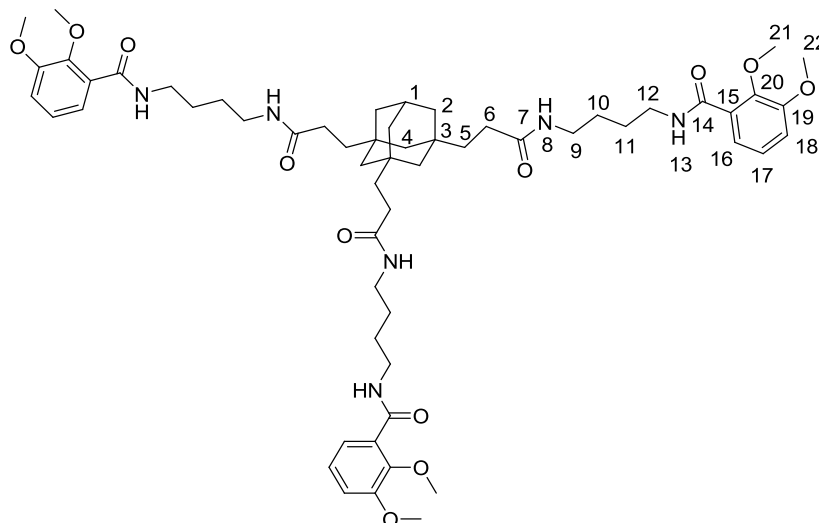
$R_f = 0.5$ (Petrolether:EtOAc 50%), **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):** δ [ppm] = 7.98-7.90 (m, 3H, 8-H), 7.65 (d, $^2J = 1.2$ Hz, 3H, 10-H), 7.12 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 3H, 11-H), 7.00 (d, $^2J = 1.4$ Hz, 3H, 12-H), 3.87 (s, 18H, 15-H, 16-H), 3.39-3.31 (m, 6H, 7-H), 1.87 (s, 1H, 1-H), 1.53-1.50 (m, 6H, 6-H), 1.30-1.20 (m, 6H, 5-H), 1.13-1.10 (m, 12H, 2-H, 4-H); **$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3):** δ [ppm] = 164.9 (C9), 152.4 (C14), 147.3 (C13), 126.8 (C10), 124.3 (C11), 115.0 (C12), 61.3 (C15), 55.9 (C16), 46.9 (C4), 41.3 (C7), 41.2 (C2), 40.4 (C5), 33.4 (C3), 29.2 (C1), 25.4 (C6); **HRMS (ESI):** berechnet für $\text{C}_{46}\text{H}_{61}\text{N}_3\text{O}_9\text{Na}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 822.4300$, gefunden = 822.4300; **IR (KBr-Pressling):** ν [cm^{-1}] = 3380 (m), 2928-2840 (m), 1649 (s), 1577-1531 (m), 1473-1426 (m), 1223 (s), 1073 (w).

Adamantanetriscatechol 84

$C_{40}H_{49}N_3O_9$, $M = 715.83$ g/mol

91 mg (0.11 mmol) der geschützten Verbindung **83** wurde in abs. CH_2Cl_2 bei -78 °C gelöst, vorsichtig mit 1.32 mL (1.32 mmol) 1M BBr_3 Lösung versehen, für 12 Stunden gerührt und langsam auftauen gelassen. Danach wurde die Reaktionslösung mit 20 mL MeOH hydrolysiert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in 20 mL Wasser aufgenommen und viermal mit 30 mL EtOAc extrahiert. Die vereinten, organischen Phasen wurden mit Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum konnten 71 mg eines gelblichen Feststoffs erhalten werden. Leider zeigte das Spektrum leichte Verunreinigungen, die auf Grund der Polarität des Produkts säulenchromatographisch nicht entfernt werden konnten.

1H -NMR (400 MHz, MeOH- d_4): δ [ppm] = 7.18 (d, $^2J = 8$ Hz, 3H, 10-H), 6.82 (d, $^2J = 8$ Hz, 3H, 11-H), 6.61 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 3H, 12-H), 3.20-3.15 (m, 6H, 7-H), 1.90 (s, 1H, 1-H), 1.73-1.69 (m, 6H, 6-H), 1.40-1.35 (m, 6H, 5-H), 1.18-1.10 (m, 12H, 2-H, 4-H); **^{13}C -NMR (100 MHz, MeOH- d_4):** δ [ppm] = 171.4 (C9), 150.2 (C14), 147.4 (C13), 119.6 (C10), 119.5 (C11), 116.8 (C12), 47.7 (C4), 42.8 (C7), 42.1 (C2), 41.4 (C5), 34.6 (C3), 30.7 (C1), 26.0 (C6); **HRMS (ESI):** berechnet für $C_{40}H_{49}N_3O_9Na^+$ $[M+Na]^+ = 738.3361$, gefunden = 738.3361.

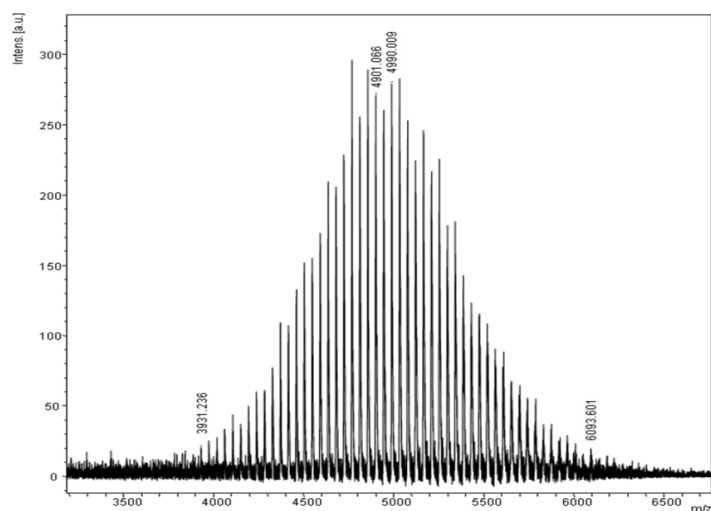
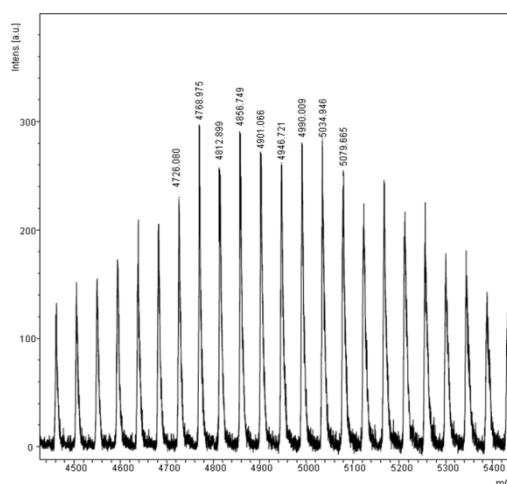
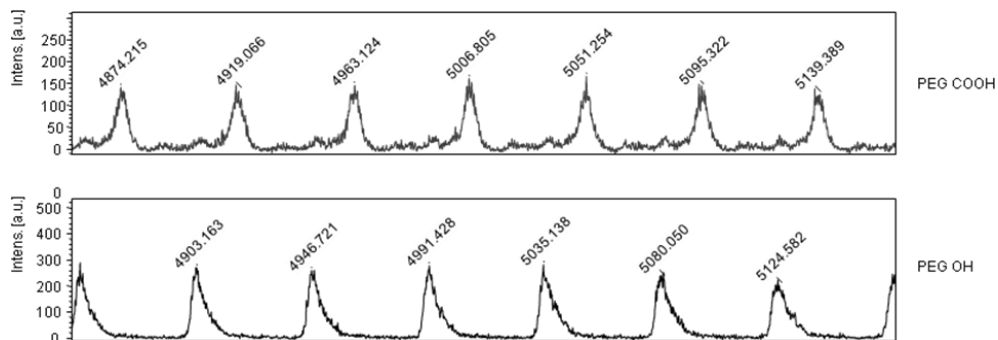
Adamantanmethoxytriscatechol 85

$C_{58}H_{82}N_6O_{12}$, $M = 1055.30$ g/mol

0.10 g (0.178 mmol) des *Triamins* **35** wurden in 20 mL abs. DMF gelöst und mit 223 μ L (1.60 mmol) abs. *N,N*-Diethylethanamin versetzt. Nach 2 Minuten wurden bei 0 °C 0.32 g (1.60 mmol) 2,3-Dimethoxybenzoesäurechlorid **82** gelöst in wenig abs. DMF, langsam dazu getropft und für 2 Tage gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in 40 mL H_2O aufgenommen und dreimal mit 30 mL CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinten, organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnten 60 mg (0.06 mmol) eines farblosen Feststoffs erhalten werden, was einer Ausbeute von 32% entspricht.

$R_f = 0.31$ (CH_2Cl_2 :MeOH 4%); **1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$):** δ [ppm] = 6.97 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 3H, 16-H), 6.85 (d, $2J = 8$ Hz, 3H, 17-H), 6.69 (d, $2J = 8.0$ Hz, 3H, 18-H), 3.82 (s, 9H, 21-H), 3.78 (s, 9H, 22-H), 1.90-1.85 (m, 6H, 9-H), 1.78-1.70 (m, 6H, 12-H), 1.67-1.61 (m, 6H, 6-H), 1.50-1.45 (m, 12H, 5-H, 11-H), 1.13-1.10 (m, 18H, 10-H, 4-H, 2-H); **^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$):** δ [ppm] = 175.3 (C7), 166.0 (C14), 152.6 (C20), 147.5 (C19), 126.2 (C16), 124.5 (C17), 122.5 (C15), 115.6 (C18), 61.3 (C21), 56.0 (C22), 45.9 (C4), 41.0 (C2), 39.3 (C10), 39.1 (C9), 33.4 (C3), 29.6 (C1), 27.2 (C11), 26.3 (C5); **HRMS (ESI):** berechnet für $C_{58}H_{82}N_6O_{12}Na^+$ $[M+Na]^+ = 1077.5883$, gefunden = 1077.5901.

MALDI-Spektren

Abbildung 113: Gesamter Ausschnitt des MALDI-Spektrums des reinen PEG-OH **63**Abbildung 114: Ausschnitt des MALDI-Spektrums des reinen PEG-OH **63**Abbildung 115: MALDI-Spektrum des reinen PEG-OH **63** und des synthetisierten PEG-COOH **64**
(gefunden $[M+H]^+ = 5051.3$)

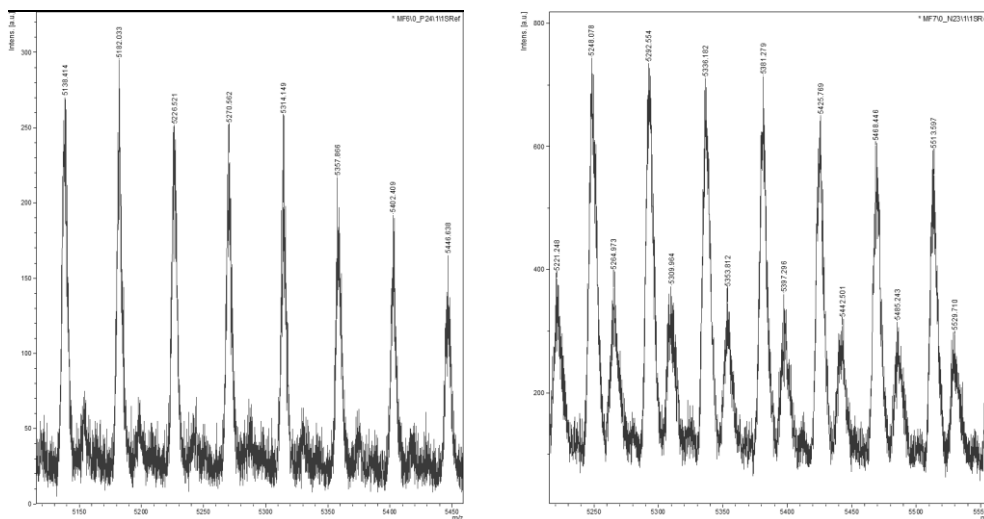


Abbildung 116: Ausschnitt des MALDI-Spektrums des NHS-Dopaminderivats **68** (links) (gefunden $[M+H]^+ = 5226.5$) und des geklickten Dopaminderivats **71** (rechts) (gefunden $[M+H]^+ = 5292.6$)

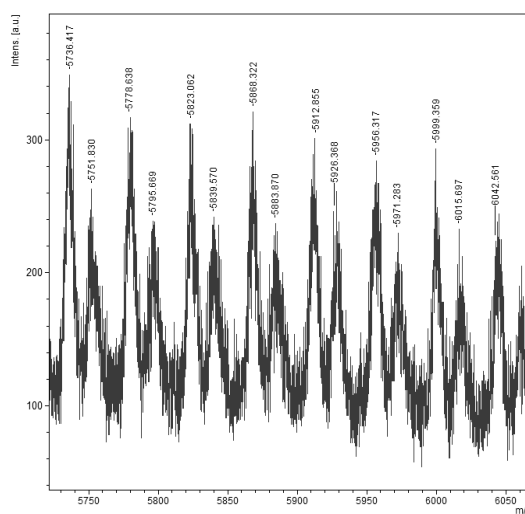


Abbildung 117: Ausschnitt des MALDI-Spektrums des geklickten Triscatechols **72** (gefunden $[M+H]^+ = 5912.8$)

XPS-Spektrum

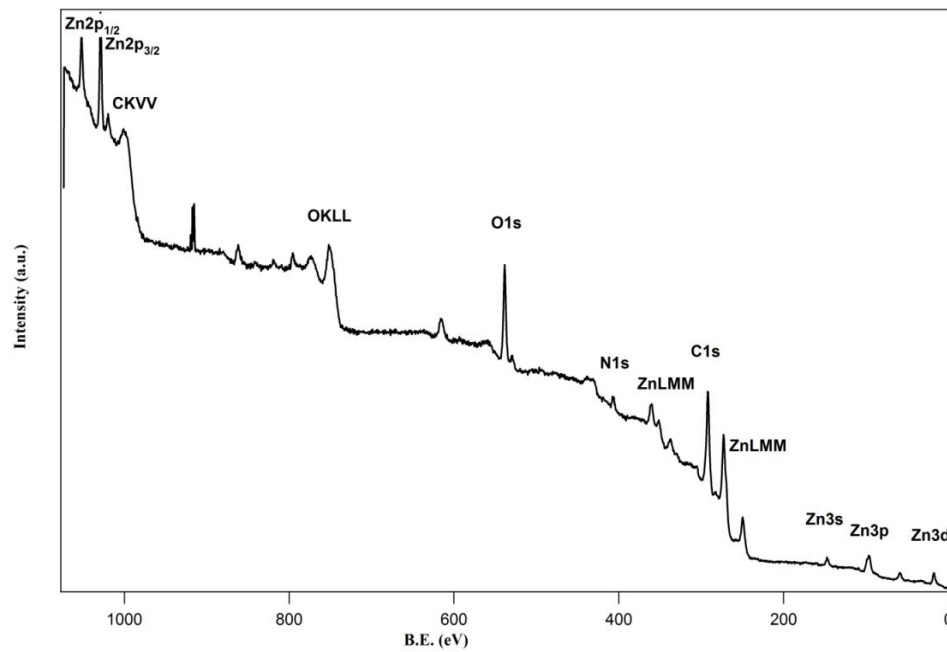


Abbildung 118: Gesamtes XPS-Spektrum des gemessenen, immobilisierten Alkin-Dopamins **60**

7 Gefahrstoffe

Stoff	Gefahrsymbol	R-Sätze	S-Sätze
Aceton	F, X _i	11-36-66-67	9-16-26
Acetonitril	F, X _n	11-20/21/22-36	16-36/37
Acrylnitril	F, T, N	45-11-23/24/25- 37/38-41-43- 51/53	53-9-16-45-61
AIBN	E, X _n	2-11-20/22-52/53	39-41-47-61
Aluminiumbromid	C	22-34	7/8-26-36/37/ 39-45
Aluminiumchlorid	C	34	(1/2)-7/8-28-45
Aluminiumoxid	-	-	22
Ammoniak	T, N	10-23-34-50	(1/2)-9-16-26- 36/37/39-45-61
Ammoniummolybdat	X _i	36/37/38	26
Benzol	F, T	45-46-11-36/38- 48/23/24/25-65	53-45
Benzylbromid	X _i	36/37/38	(2)-39
Boc ₂ O	T ⁺	10-26-36/38-43	28.1-36/37-45
Borantribromid			
Brom	T ⁺ , N, C	26-35-50	7/9-26-45-61
<i>tert</i> -Butanol	F, X _n	11-20	9-16
<i>tert</i> -Butylbromid	F	11	16-33
Butylzinnhydrid	T, N	21-25-36/38- 48/23/25-50/53	(1/2)-35-36/37/39- 45-60-61
Cbz-Cl	T, C, N	45-20-34-48/ 22-50/53	53-26-36/37/ 39-45-60-61
1-Carboxyadamantan	-	-	22-24/25
Chloroform	X _n	22-38-40-48/ 20/22	36/37

Celite	X _n	68/20	22
DIBAL-H	F, C	14/15-17-35	16-26-36/37/ 39-43-45
Dichlormethan	X _n	40	23-24/25-36/37
Diethylether	F ⁺ , X _n	12-19-22-66-67	9-16-29-33
Dimethylformamid	T	9-16-29-33	53-45
Dimethylsulfoxid	X _i	36/38	26
Dioxan	F, X _n	11-19-36/37-40- 66	9-16-36/37-46
DCC	T	22-24-41-43	24-26-37/39-45
DIPEA	F, C	11-22-34-52/53	16-26-36/37/39-45- 61
DMAP	T ⁺	25-27-36/37/38	26-28-36/37/39-45
Dopamin·HCl	X _i , N	36/37/38	26-36/37
DPPA	T	23/24/25-36/37/ 38	26-36/37/39-45
EDC·HCl	X _i	37/38-41	26-36/37/39
Eisen	F	11	53-45-60-61
Essigsäure	C	10-35	(1/2)-23-26-45
Ethanol	F	11	7-16
Ethylacetat	F, X _i	11-36-66-67	16-26-33
Fluorbenzol	F	11	7-16-29-33
H ₂	F	12	9-16-33
HBTU	X _i	36/37/38	26
konz. HCl	C	34-37	26-36/37/39-45
Hexan	F, X _n , N	11-38-48/20-62- 65-67-51/53	(2)-9-16-29-33- 36/37-61-62
HOAt	T, X _i , F, X _n , E	61-20/21-36-5- 36/37/38-11-41- 37/38-22-2	53-45-37/39-26-16- 39-35-36
HOBt	E	2	16-35
konz. H ₂ SO ₄	C	35	26-30-45

Isopropanol	F, X _i	11-36-37	7-16-24/25-26
Kaliumcarbonat	X _i	36/37/38	22-26
Kaliumhydrogensulfat	C	34-37	26-36/37/39-45
Kaliumhydroxid	C	22-35	26-36/37/39-45
Lithiumhydroxid	C	20/22-34	9-20-26-36/37/39-45-60
Methanol	T, F	11-23/24/25-39	7-16-36/37-45
Mesylchlorid	C, T ⁺	21/22-26-34-37-52/53	26-28-36/37/39-45
Natriumcarbonat	X _i	36	(2)-22-26
Natriumazid	T ⁺ , N	28-32-50/53	28-45-60-61
Natriumhydrogen-sulfitlösung	X _n	22-31	25-46
Natriumhydroxid	C	35	26-37/39-45
NHS			22-24/25
Ninhydrin	X _n	22-36/37/38	26-28-36
Oxalylchlorid	C	14-20-29-34	26-36/37/39-43-45
Pd/C	-	-	14-22
Periodsäure	O, C	8-34	17-26-36/37/39-45
Petrolether (50-70)	F, X _n	11-52/53-65	9-16-23.2-24-33-62
Platinoxid	O, X _i	8-36	26
RuCl ₃ ·H ₂ O	C	22-34	26-36/37/39-45
Silbersulfat	X _i	36/37/38	26-36
Tetrabrommethan	X _n	20/21/22	28
Tetrabutylammonium-bromid	X _i	36/37/38	26-36
Tetrahydrofuran	F, X _i	11-19-36/37	16-29-33
Titanoxid	-	-	-

Thionylchlorid	C	14-20/22-29-35	26-36/37/39-45
Tetrachlorkohlenstoff	T, N	23/24/25-40-48/23-52/53-59	23.2.36/37-45-59-61
TMS-Diazomethan	F ₊ , X _n	12-19-22-66-67	9-16-29-33
Toluol	F, X _n	11-20	16-25-29-33
Tosylchlorid	C	34	26-36/37/38/39-45
Triethylamin	F, C	11-20/21/22-35	-
Zinkoxid	N	50/53	60-61

8 Literaturverzeichnis

- (1) Richards, J. J.; Melander, C. *ChemBioChem* **2009**, *10*, 2287.
- (2) Costerton, J. W.; Stewart, P. S.; Greenberg, E. P. *Science* **1999**, *284*, 1318.
- (3) Li, C. M.; Dong, H.; Cao, X. D.; Luong, J. H. T.; Zhang, X. J. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 937.
- (4) Carpentier, B.; Cerf, O. *J. Appl. Bacteriol.* **1993**, *75*, 499.
- (5) Beech, I. B.; Sunner, J. A.; Hiraoka, K. *Int. Microbiol.* **2005**, *8*, 157.
- (6) Musk, D. J.; Hergenrother, P. J. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 2163.
- (7) Kang, Y.; Li, X.; Tu, Y. Q.; Wang, Q.; Agren, H. *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 14496.
- (8) Waters, C. M.; Bassler, B. L. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* **2005**, *21*, 319.
- (9) Dobretsov, S.; Teplitski, M.; Paul, V. *Biofouling* **2009**, *25*, 413.
- (10) Sagiv, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 92.
- (11) Whitesides, G. M.; Boncheva, M. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, *99*, 4769.
- (12) Ulman, A. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 1533.
- (13) Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1103.
- (14) Guerrero, G.; Mutin, P. H.; Vioux, A. *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 4367.
- (15) Bhat, R. R.; Fischer, D. A.; Genzer, J. *Langmuir* **2002**, *18*, 5640.
- (16) Liedberg, B.; Tengvall, P. *Langmuir* **1995**, *11*, 3821.
- (17) Biebuyck, H. A.; Bian, C. D.; Whitesides, G. M. *Langmuir* **1994**, *10*, 1825.
- (18) Dubois, L. H.; Zegarski, B. R.; Nuzzo, R. G. *P Natl. Acad. Sci.* **1987**, *84*, 4739.
- (19) Troughton, E. B.; Bain, C. D.; Whitesides, G. M.; Nuzzo, R. G.; Allara, D. L.; Porter, M. D. *Langmuir* **1988**, *4*, 365.
- (20) Tosatti, S.; Michel, R.; Textor, M.; Spencer, N. D. *Langmuir* **2002**, *18*, 3537.
- (21) Chaudhury, M. K.; Whitesides, G. M. *Science* **1992**, *255*, 1230.
- (22) Chapman, R. G.; Ostuni, E.; Takayama, S.; Holmlin, R. E.; Yan, L.; Whitesides, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8303.
- (23) Li, L.; Chen, S.; Zheng, J.; Ratner, B. D.; Jiang, S. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 2934.
- (24) Chen, S. F.; Jiang, S. Y. *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 335.
- (25) Rana, D.; Matsuura, T. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2448.

-
- (26) Banerjee, I.; Pangule, R. C.; Kane, R. S. *Adv. Mater.* **2011**, *23*, 690.
- (27) Kumta, P. N.; Sfeir, C.; Lee, D. H.; Olton, D.; Choi, D. *Acta. Biomater.* **2005**, *1*, 65.
- (28) Beuvelot, J.; Portet, D.; Lecollinet, G.; Moreau, M. F.; Basle, M. F.; Chappard, D.; Libouban, H. *Biomed. Mater. B* **2009**, *90B*, 873.
- (29) Wermelin, K.; Suska, F.; Tengvall, P.; Thomsen, P.; Aspenberg, P. *Bone* **2008**, *42*, S41.
- (30) Lehr, U.; Hunke, G., Ed. *Chem. Acc.* **2011**, *1*, 13.
- (31) Maison, W.; Franzmann, E.; Khalil, F.; Weidmann, C.; Schroder, M.; Rohnke, M.; Janek, J.; Smarsly, B. M. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 8596.
- (32) Walter, U.; Schneider, N.; Plaumann, M. *Dtsch. Gesundheitswes.* **2008**, *70*, 730.
- (33) Thomas, P.; Schuh, A.; Ring, J.; Thomsen, M. *Hautarzt* **2008**, *59*, 220.
- (34) Balazic, M.; Kopac, J.; Jackson, M. J. *Int. J. Nano Biomat.* **2007**, *1*, 3.
- (35) Macyk, W.; Szaciłowski, K.; Stochel, G.; Buchalska, M.; Kunciewicz, J.; Łabuz, P. *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 2687.
- (36) Heller, A. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 503.
- (37) McCafferty, E.; Wightman, J. P.; Cromer, T. F. *J. Electrochem. Soc.* **1999**, *146*, 2849.
- (38) Preining, O. *Pure Appl. Chem.* **1992**, *64*, 1679.
- (39) Perrier, T.; Saulnier, P.; Benoit, J. P. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 11516.
- (40) Mejias, N.; Pleixats, R.; Shafir, A.; Medio-Simon, M.; Asensio, G. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 5090.
- (41) Mahmoud, E. A.; Sankaranarayanan, J.; Morachis, J. M.; Kim, G.; Almutairi, A. *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 1416.
- (42) Dykman, L.; Khlebtsov, N. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2256.
- (43) Jung, J. H.; Lee, J. H.; Shinkai, S. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4464.
- (44) Lee, D. E.; Koo, H.; Sun, I. C.; Ryu, J. H.; Kim, K.; Kwon, I. C. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2656.
- (45) Ralston, E.; Swain, G. *Bioinspiration Biomimetics* **2009**, *4*.
- (46) Zelikin, A. N. *ACS Nano.* **2010**, *4*, 2494.
- (47) Costerton, W. J.; Montanaro, L.; Balaban, N.; Arciola, C. R. *Int. J. Artif. Organs* **2009**, *32*, 699.

-
- (48) Scheffer, D.; Hofmann, S.; Pietsch, M.; Wenisch, C. *Orthopäde* **2008**, 37, 709.
- (49) Wodtke, J.; Löhr, J. F. *Orthopäde* **2008**, 37, 257.
- (50) Geipel, U.; Herrmann, M. *Orthopäde* **2004**, 33, 1411.
- (51) Heppert, V.; Herrmann, P.; Thoele, P.; Wagner, C. *Trauma Berufskrankh.* **2010**, 12, 236.
- (52) Ascherl, R. *Orthopäde* **2010**, 39, 980.
- (53) Lee, H.; Lee, B. P.; Messersmith, P. B. *Nature* **2007**, 448, 338.
- (54) Lee, H.; Scherer, N. F.; Messersmith, P. B. *Natl. Acad. Sci.* **2006**, 103, 12999.
- (55) Brown, C. H. *Q. J. Microsc. Sci.* **1952**, 3-93, 487.
- (56) Wilker, J. J. *Angew. Chem.* **2010**, 122, 8252.
- (57) Neilands, J. B. *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 26723.
- (58) Braun, V.; Killmann, H. *Trends Biochem. Sci.* **1999**, 24, 104.
- (59) Hantke, K. *Curr. Opin. Microbiol.* **2001**, 4, 172.
- (60) Dertz, E. A.; Stintzi, A.; Raymond, K. N. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2006**, 11, 1087.
- (61) Greenwood, K. T.; Luke, R. K. *Biochim. Biophys. Acta* **1978**, 525, 209.
- (62) Brickman, T. J.; McIntosh, M. A. *J. Biol. Chem.* **1992**, 267, 12350.
- (63) Karpishin, T. B.; Raymond, K. N. *Angew. Chem.* **1992**, 104, 486.
- (64) Karpishin, T. B.; Dewey, T. M.; Raymond, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 1842.
- (65) Butler, A.; Theisen, R. M. *Coordin. Chem. Rev.* **2010**, 254, 288.
- (66) Guan, L. L.; Kamino, K. *BMC Microbiol* **2001**, 1, 27.
- (67) Zhou, T.; Winkelmann, G.; Dai, Z. Y.; Hider, R. C. *J. Pharm. Pharmacol.* **2011**, 63, 893.
- (68) Popescu, B. F.; Nichol, H. *CNS Neurosci. Ther.* **2011**, 17, 256.
- (69) Richardson, D. R. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2004**, 1012, 326.
- (70) Gassen, M.; Youdim, M. B. *Pharmacol. Toxicol.* **1997**, 80, 159.
- (71) Chaston, T. B.; Richardson, D. R. *Am. J. Hematol.* **2003**, 73, 200.
- (72) Waite, J. H. *J. Biol. Chem.* **1983**, 258, 2911.
- (73) Rice, C. R.; Ward, M. D.; Nazeeruddin, M. K.; Gratzel, M. *New J. Chem.* **2000**, 24, 651.
- (74) Dalsin, J. L.; Messersmith, P. B. *Mater. Today* **2005**, 8, 38.
- (75) Dalsin, J. L.; Lin, L. J.; Tosatti, S.; Voros, J.; Textor, M.; Messersmith, P. B. *Langmuir* **2005**, 21, 640.

-
- (76) Lee, H.; Dellatore, S. M.; Miller, W. M.; Messersmith, P. B. *Science* **2007**, *318*, 426.
- (77) Wach, J. Y.; Malisova, B.; Bonazzi, S.; Tosatti, S.; Textor, M.; Zurcher, S.; Gademann, K. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 10579.
- (78) Zurcher, S.; Wackerlin, D.; Bethuel, Y.; Malisova, B.; Textor, M.; Tosatti, S.; Gademann, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1064.
- (79) Saxer, S.; Portmann, C.; Tosatti, S.; Gademann, K.; Zurcher, S.; Textor, M. *Macromol.* **2010**, *43*, 1050.
- (80) Gademann, K. *Chimia* **2007**, *61*, 373.
- (81) Gademann, K.; Kobylinska, J.; Wach, J. Y.; Woods, T. M. *Biometals* **2009**, *22*, 595.
- (82) Ye, Q.; Zhou, F.; Liu, W. M. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4244.
- (83) Statz, A.; Finlay, J.; Dalsin, J.; Callow, M.; Callow, J. A.; Messersmith, P. B. *Biofouling* **2006**, *22*, 391.
- (84) Malisova, B.; Tosatti, S.; Textor, M.; Gademann, K.; Zurcher, S. *Langmuir* **2010**, *26*, 4018.
- (85) Moser, J.; Punchihewa, S.; Infelta, P. P.; Gratzel, M. *Langmuir* **1991**, *7*, 3012.
- (86) Chen, L. X.; Liu, T.; Thurnauer, M. C.; Csencsits, R.; Rajh, T. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 8539.
- (87) Rodriguez, R.; Blesa, M. A.; Regazzoni, A. E. *J. Colloid Interf. Sci.* **1996**, *177*, 122.
- (88) Amstad, E.; Gehring, A. U.; Fischer, H.; Nagaiyanallur, V. V.; Hahner, G.; Textor, M.; Reimhult, E. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 683.
- (89) Schüsler-Van Hees, M. T. I. W.; Van Henegouwen, G. M. J. B.; Driever, M. F. *J. Pharm. World Sci.* **1983**, *5*, 102.
- (90) Lamoureux, G.; Artavia, G. *Curr. Med. Chem.* **2010**, *17*, 2967.
- (91) Landa, S. *Acta Chim. Hung.* **1962**, *31*, 123.
- (92) Landa, S.; Burkhard, J.; Vais, J. *Z Chem.* **1967**, *7*, 388.
- (93) Schwertfeger, H.; Fokin, A. A.; Schreiner, P. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1022.
- (94) Landa, S.; Machacek, V.; Mzourek, J. *Chem. Listy* **1933**, *27*, 415.
- (95) Prelog, V.; Seiwerth, R. *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1941**, *74*, 1644.
- (96) Schleyer, P. v. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 3292.

-
- (97) Weidner, T.; Zharnikov, M.; Hossbach, J.; Castner, D. G.; Siemeling, U. *J Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 14975.
- (98) Kitagawa, T.; Idomoto, Y.; Matsubara, H.; Hobara, D.; Kakiuchi, T.; Okazaki, T.; Komatsu, K. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1362.
- (99) Katano, S.; Kim, Y.; Matsubara, H.; Kitagawa, T.; Kawai, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2511.
- (100) Franzmann, E. Khalil F., Weidmann, C.; Schröder, M.; Rohnke, M.; Janek, J.; Smarsly, B. M.; Maison, W. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 8596.
- (101) Schreiner, P. R.; Lauenstein, O.; Kolomitsyn, I. V.; Nadi, S.; Fokin, A. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1895.
- (102) Stetter, H.; Gärtner, J.; Tacke, P. *Chem. Ber.* **1965**, *98*, 3888.
- (103) Stetter, H.; Mayer, J.; Schwarz, M.; Wulff, K. *Chem. Ber. Recl.* **1960**, *93*, 226.
- (104) Wanka, L.; Cabrele, C.; Vanejews, M.; Schreiner, P. R. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 1474.
- (105) Newman, H. *Synthesis* **1972**, 692.
- (106) Fort, R. C.; Schleyer, P. V. *Chem. Rev.* **1964**, *64*, 277.
- (107) Lebreton, S.; Newcombe, N.; Bradley, M. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2475.
- (108) Lebreton, S.; Newcombe, N.; Bradley, M. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2479.
- (109) Pannier, N.; Maison, W. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 1278.
- (110) Maison, W.; Frangioni, J. V.; Pannier, N. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4567.
- (111) Kunz, D. *Chem. unserer Zeit* **2009**, *43*, 224.
- (112) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2056.
- (113) Curtius, T. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1890**, *23*, 3023.
- (114) Lebel, H.; Leogane, O. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4107.
- (115) Bräse, S.; Gil, C.; Knepper, K.; Zimmermann, V. *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 5320.
- (116) Pezzella, A.; Panzella, L.; Natangelo, A.; Arzillo, M.; Napolitano, A.; d'Ischia, M. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9225.
- (117) Waite, J. H. *Nat. Mater.* **2008**, *7*, 8.
- (118) Li, B.; Liu, W. P.; Jiang, Z. Y.; Dong, X.; Wang, B. Y.; Zhong, Y. R. *Langmuir* **2009**, *25*, 7368.
- (119) Ryu, J.; Ku, S. H.; Lee, H.; Park, C. B. *Adv. Funct. Mater.* **2010**, *20*, 2132.

-
- (120) Zhang, F.; Kang, E. T.; Neoh, K. G.; Wang, P.; Tan, K. L. *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *56*, 324.
- (121) Ralston, E.; Swain, G. *Bioinspir. Biomim.* **2009**, *4*, 015007.
- (122) Wasiewski, W.; Fasco, M. J.; Martin, B. M.; Detwiler, T. C.; Fenton, J. W. *Thromb. Res.* **1976**, *8*, 881.
- (123) Dalsin, J. L.; Hu, B. H.; Lee, B. P.; Messersmith, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4253.
- (124) Gunawan, R. C.; King, J. A.; Lee, B. P.; Messersmith, P. B.; Miller, W. M. *Langmuir* **2007**, *23*, 10635.
- (125) Lee, B. P.; Dalsin, J. L.; Messersmith, P. B. *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 1038.
- (126) Chen, G. J.; Ning, X. G.; Park, B.; Boons, G. J.; Xu, B. Q. *Langmuir* **2009**, *25*, 2860.
- (127) Hiki, S.; Kataoka, K. *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 2191.
- (128) Lu, D.; Meng, Z. X.; Thakur, G. A.; Fan, P. S.; Steed, J.; Tartal, C. L.; Hurst, D. P.; Reggio, P. H.; Deschamps, J. R.; Parrish, D. A.; George, C.; Jarbe, T. U. C.; Lamb, R. J.; Makriyannis, A. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4576.
- (129) Wach, J. Y.; Bonazzi, S.; Gademann, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7123.
- (130) Fröba, M.; Scheld, W.; Gath, C.; Hoffmann, F. *Chem. unserer Zeit* **2004**, *38*, 162.
- (131) de Gennes, P. G. *Rev. Mod. Phys.* **1985**, *57*, 827.
- (132) Riedling, K. *Fresenius' J. Anal. Chem.* **1984**, *319*, 706.
- (133) Kingshott, P.; Thissen, H.; Griesser, H. J. *Biomaterials* **2002**, *23*, 2043.
- (134) Pasche, S.; Voros, J.; Griesser, H. J.; Spencer, N. D.; Textor, M. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 17545.
- (135) Pasche, S.; De Paul, S. M.; Vörös, J.; Spencer, N. D.; Textor, M. *Langmuir* **2003**, *19*, 9216.
- (136) Kuznetsov, V. N.; Serpone, N. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 25203.
- (137) Ma, Y.; Yao, J.-n. *J. Photochem. Photobiol. A* **1998**, *116*, 167.
- (138) Caplan, A. I. *J. Pathol.* **2009**, *217*, 318.
- (139) Wenisch, S.; Trinkaus, K.; Hild, A.; Hose, D.; Herde, K.; Heiss, C.; Kilian, O.; Alt, V.; Schnettler, R. *Bone* **2005**, *36*, 74.
- (140) Wenisch, S.; Trinkaus, K.; Hild, A.; Hose, D.; Heiss, C.; Alt, V.; Klisch, C.; Meissl, H.; Schnettler, R. *Bone* **2006**, *38*, 911.

-
- (141) Schreml, S.; Szeimies, R. M.; Prantl, L.; Landthaler, M.; Babilas, P. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2010**, *63*, 866.
- (142) Schneider, L. A.; Korber, A.; Grabbe, S.; Dissemond, J. *Arch. Dermatol. Res.* **2007**, *298*, 413.
- (143) Ozgur, U.; Alivov, Y. I.; Liu, C.; Teke, A.; Reshchikov, M. A.; Dogan, S.; Avrutin, V.; Cho, S. J.; Morkoc, H. *J. Appl. Phys.* **2005**, *98*.
- (144) Hoffmann, M. R.; Martin, S. T.; Choi, W. Y.; Bahnemann, D. W. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 69.
- (145) Legrini, O.; Oliveros, E.; Braun, A. M. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 671.
- (146) Sa, S.; Silva, H.; Brandao, L.; Sousa, J. M.; Mendes, A. *Appl. Catal. B-Environ.* **2010**, *99*, 43.
- (147) Johnson, J. C.; Yan, H. Q.; Schaller, R. D.; Haber, L. H.; Saykally, R. J.; Yang, P. D. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 11387.
- (148) Dorfman, A.; Kumar, N.; Hahn, J. I. *Langmuir* **2006**, *22*, 4890.
- (149) Armelao, L.; Pascolini, M.; Biasiolo, E.; Tondello, E.; Bottaro, G.; Carbonare, M. D.; D'Arrigo, A.; Leon, A. *Inorg. Chim. Acta* **2008**, *361*, 3603.
- (150) Famengo, A.; Anantharaman, S.; Ischia, G.; Causin, V.; Natile, M. M.; Maccato, C.; Tondello, E.; Bertagnolli, H.; Gross, S. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2009**, 5017.
- (151) Gnichwitz, J. F.; Marczak, R.; Werner, F.; Lang, N. N.; Jux, N.; Guldi, D. M.; Peukert, W.; Hirsch, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 17910.
- (152) Marczak, R.; Werner, F.; Gnichwitz, J. F.; Hirsch, A.; Guldi, D. M.; Peukert, W. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 4669.
- (153) Ramakrishna, G.; Ghosh, H. N. *Langmuir* **2003**, *19*, 3006.
- (154) Le Bahers, T.; Pauporte, T.; Odobel, F.; Labat, F.; Ciofini, I. *Int. J. Quantum Chem.* **2012**, *112*, 2062.
- (155) Delimarskii, R. E.; Rodionov, V. N.; Yurchenko, A. G. *Ukr. Khim. Zh.* **1988**, *54*, 437.
- (156) Nasr, K.; Pannier, N.; Frangioni, J. V.; Maison, W. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 1056.
- (157) Pannier, N. *Diplomarbeit*, Gießen, **2008**.

- (158) Lu, D.; Meng, Z.; Thakur, G. A.; Fan, P.; Steed, J.; Tartal, C. L.; Hurst, D. P.; Reggio, P. H.; Deschamps, J. R.; Parrish, D. A.; George, C.; Jarbe, T. U.; Lamb, R. J.; Makriyannis, A. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4576.
- (159) Kieczykowski, G. R.; Jobson, R. B.; Melillo, D. G.; Reinhold, D. F.; Grenda, V. J.; Shinkai, I. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 8310.
- (160) Fleck, C.; Franzmann, E.; Claes, D.; Rickert, A.; Maison, W. *Synthesis* **2013**, *45*, 1452.
- (161) Franzmann, E.; Khalil, F.; Weidmann, C.; Schröder, M.; Rohnke, M.; Janek, J.; Smarsly, B. M.; Maison, W. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 8596.